



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Determinación de la composición química y evaluación de la actividad antibacteriana sinérgica in vitro de la asociación de dos aceites esenciales del género Citrus de la zona de Chanchamayo

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Katia Rubí PORRAS COCHACHI

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Porras K. Determinación de la composición química y evaluación de la actividad antibacteriana sinérgica in vitro de la asociación de dos aceites esenciales del género Citrus de la zona de Chanchamayo [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2019.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA SINÉRGICA *in vitro* DE LA ASOCIACIÓN DE DOS ACEITES
ESENCIALES DEL GÉNERO *Citrus* DE LA ZONA DE CHANCHAMAYO**

Que presenta la Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

KATIA RUBÍ PORRAS COCHACHI

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

Con Mención : Diecinueve (19)

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 12 de abril de 2019

Dr. César Máximo Fuertes Ruitón
Presidente

Dra. María Elena Salazar Salvatierra
Miembro

Mg. Luis Alberto Rojas Ríos
Miembro

Q.F. Walter Rivas Altez
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

DEDICATORIA

A Dios, por brindarme el regalo de la vida, la salud y unos padres maravillosos.

A mi madre Aida, por ser mi cómplice, por apoyarme incondicionalmente, por no apagarme la luz, por crear a mi alrededor un mundo mejor lleno de mucho amor además de enseñarme a ser una mujer independiente, luchadora y multifacética porque siempre se puede hacer más que ayer por su incansable amor y afecto, este logro es más suyo que mío, te adoro.

A mi padre Juan, quien me enseñó a ser perseverante y a luchar siempre con mucho esfuerzo e inteligencia ante las adversidades. Por ser el hombre más trabajador, bondadoso e inteligente con una conducta intachable eres mi mayor orgullo y modelo a seguir, este logro es más suyo que mío, te adoro.

A mis hermanos Fiorella y Kenyo por su cariño, comprensión y sobre todo por creer en mí apoyándome en los momentos difíciles por su gran paciencia y unión.

A mis abuelitos Fortunata, Sixta y Martín por sus consejos, apoyo incondicional sobre todo por el inmenso amor y cariño que me han brindado toda mi gratitud y respeto hacia ustedes.

Todo por Ustedes,

¡Los amo demasiado!

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y a la Facultad de Farmacia y Bioquímica por recibirme y permitirme absorber grandes conocimientos que han hecho de mí una mejor persona para enfrentarme a la vida.

Al Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz, por creer en mí y brindarme todo su apoyo incondicional desde el principio, este trabajo no sería posible sin su apoyo y guía.

A mis tías Julia y Mariza por aconsejarme, apoyarme y estar presente en cada paso que doy desde antes de mi ingreso a la universidad.

A los miembros del jurado examinador y calificador por el tiempo dedicado a la revisión y brindar aportes a esta Tesis: Dra. María Elena Salazar Salvatierra, Dr. César Máximo Fuertes Ruitón, Mg. Luis Alberto Rojas Ríos y Q.F Walter Rivas Altez.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	
SUMMARY	
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivo General.	2
1.2. Objetivos específicos.	2
1.3. Hipótesis.	3
II. GENERALIDADES	4
2.1. Antecedentes generales.	4
2.2. Marco teórico.	7
2.2.1. Plantas medicinales.	7
2.2.2. Plantas aromáticas.	7
2.2.3. Familia Rutaceae.	8
2.2.4. Género <i>Citrus</i> .	8
2.2.5. Plantas Medicinales en estudio.	9
2.2.5.1. <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck.	9
2.2.5.2. <i>Citrus japonica</i> Thumb.	10
2.2.6. Aceites esenciales.	12
2.2.6.1. Extracción de aceites esenciales.	13
2.2.6.2. Importancia en la salud.	13
2.2.7. Actividad antimicrobiana de aceites esenciales.	14
2.2.7.1. Asociación de aceites antimicrobianos.	15

2.2.7.2. Evaluación de la sinergia antimicrobiana.	16
2.2.8. Metabolitos secundarios con acción antimicrobiana.	17
III. PARTE EXPERIMENTAL	21
3.1. Metodología.	21
3.1.1. Recolección e identificación de las especies en estudio.	21
3.1.2. Estabilización de las muestras.	22
3.1.3. Clasificación taxonómica de las especies.	22
3.1.4. Extracción de los aceites esenciales.	22
3.1.4.1. Rendimiento de los aceites esenciales.	23
3.1.5. Análisis fisicoquímico de los aceites esenciales.	24
3.1.6. Determinación de los compuestos químicos en los aceites esenciales.	24
3.1.7. Evaluación de la actividad antimicrobiana individual de cada aceite esencial mediante el método de microdilución colorimétrica.	25
3.1.7.1. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de microdilución colorimétrica.	25
3.1.8. Evaluación de la actividad antibacteriana combinada de los aceites esenciales	33

mediante el método de microtitulación en placa por tablero de ajedrez.

3.1.8.1.	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria Fraccionada (ICF) por el método de microtitulación en placa por tablero de ajedrez.	33
----------	--	----

3.2.	Flujograma de la investigación.	39
------	---------------------------------	----

IV.	RESULTADOS	40
V.	DISCUSIÓN	63
VI.	CONCLUSIONES	68
VII.	RECOMENDACIONES	69
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
IX.	ANEXO	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Plantas seleccionadas y datos de recolección.	22
Tabla 2.	Susceptibilidad antibacteriana de las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> cepa-clínica y <i>Staphylococcus epidermidis</i> cepa-clínica.	28
Tabla 3.	Microdilución de los aceites esenciales.	29
Tabla 4.	Microdilución de Ciprofloxacino.	30
Tabla 5.	Diseño de la bandeja de microdilución colorimétrica.	32
Tabla 6.	Clasificación de la actividad antimicrobiana respecto al CMI.	33
Tabla 7.	Esquema de la microtitulación en placa por tablero de ajedrez.	36
Tabla 8.	Propiedades y parámetros fisicoquímicos de los aceites esenciales en estudio.	40
Tabla 9.	Identificación de los compuestos químicos del aceite esencial de <i>Citrus sinensis</i> L. Osbect “naranja valencia” de 3 a 50 minutos.	42
Tabla 10.	Elucidación de las estructuras de los compuestos volátiles del aceite esencial de <i>Citrus sinensis</i> L. Osbect “naranja valencia” por el método de CG/EM.	43
Tabla 11.	Identificación de los compuestos químicos del aceite esencial de <i>Citrus japonica</i> Thumb. “naranja enana” de 3 a 90 minutos.	45

Tabla 12.	Elucidación de las estructuras de los compuestos volátiles del aceite esencial de <i>Citrus japonica</i> Thumb. “naranja enana” por el método de CG/EM.	46
Tabla 13.	Valor de la Concentración Mínima Inhibitoria de los dos aceites esenciales sobre bacterias Gram (+) y bacterias Gram (-).	47
Tabla 14.	Concentraciones de los aceites esenciales <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck “naranja valencia” y <i>Citrus japonica</i> Thumb. “naranja enana” en <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	56
Tabla 15.	Concentraciones de los aceites esenciales <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck “naranja valencia” y <i>Citrus japonica</i> Thumb. “naranja enana” en <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228.	58
Tabla 16.	Concentraciones de los aceites esenciales <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck “naranja valencia” y <i>Citrus japonica</i> Thumb. “naranja enana” en <i>Staphylococcus aureus</i> cepa-clínica.	60
Tabla 17.	Concentraciones de los aceites esenciales <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck “naranja valencia” y <i>Citrus japonica</i> Thumb. “naranja enana” en <i>Staphylococcus epidermidis</i> cepa-clínica.	62
Tabla 18.	Combinación de los componentes de los aceites esenciales y sus interacciones antimicrobianas contra varios microorganismos.	139

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	<i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck “naranja valencia”.	10
Figura 2.	<i>Citrus japonica</i> Thumb. “naranja enana”.	12
Figura 3.	Estructura del Fenol.	18
Figura 4.	Estructura de la Quinona.	18
Figura 5.	Estructura de taninos condensado-hidrolizable	18
Figura 6.	Estructura de Cumarinas.	19
Figura 7.	Estructura de Flavonas.	19
Figura 8.	Estructura de Alcaloides.	19
Figura 9.	Reacción de reducción de resazurina (púrpura-azul) a resorufina (rosado-incoloro).	26
Figura 10.	Prueba de sensibilidad antibacteriana para <i>Staphylococcus aureus</i> -cepa clínica.	27
Figura 11.	Prueba de sensibilidad antibacteriana para <i>Staphylococcus epidermidis</i> -cepa clínica.	27
Figura 12.	Prototipo de placas para determinar el sinergismo antibacteriano adecuado a nuestro estudio tomando como base el método de tablero de ajedrez.	38
Figura 13.	Diagrama de flujo de la parte experimental de la determinación de la composición química, actividad antibacteriana individual y sinérgica <i>in vitro</i> de dos aceites esenciales del género <i>Citrus</i> .	39
Figura 14.	Perfil cromatográfico de los compuestos volátiles del aceite esencial de <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck	41

“naranja valencia” de 3 a 30 minutos. La identificación de cada pico se da en la Tabla 9.

- | | | |
|-------------------|--|----|
| Figura 15. | Perfil cromatográfico de los compuestos volátiles del aceite esencial de <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck “naranja valencia” de 30 a 50 minutos. La identificación de cada pico se da en la Tabla 9. | 41 |
| Figura 16. | Perfil cromatográfico de los compuestos volátiles del aceite esencial de <i>Citrus japonica</i> Thumb. “naranja enana” de 3 a 30 minutos. La identificación de cada pico se da en la Tabla 11. | 44 |
| Figura 17. | Perfil cromatográfico de los compuestos volátiles del aceite esencial de <i>Citrus japonica</i> Thumb. “naranja enana” de 30 a 90 minutos. La identificación de cada pico se da en la Tabla 11. | 44 |
| Figura 18. | Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género <i>Citrus</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. | 48 |
| Figura 19. | Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género <i>Citrus</i> frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228. | 49 |
| Figura 20. | Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género <i>Citrus</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> cepa-clínica. | 50 |
| Figura 21. | Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género <i>Citrus</i> frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> cepa-clínica. | 51 |

Figura 22.	Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género <i>Citrus</i> frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.	52
Figura 23.	Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género <i>Citrus</i> frente a <i>Escherichia coli</i> cepa-clínica 1.	53
Figura 24.	Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género <i>Citrus</i> frente a <i>Escherichia coli</i> cepa-clínica 2.	54
Figura 25	Actividad antibacteriana combinada de los aceites esenciales <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck y <i>Citrus Japonica</i> Thumb. frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	55
Figura 26.	Actividad antibacteriana combinada de los aceites esenciales <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck y <i>Citrus japonica</i> Thumb. frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228.	57
Figura 27.	Actividad antibacteriana combinada de los aceites esenciales <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck y <i>Citrus japonica</i> Thumb. frente a <i>Staphylococcus aureus</i> cepa-clínica.	59
Figura 28.	Actividad antibacteriana combinada de los aceites esenciales <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck y <i>Citrus japonica</i> Thumb. frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> cepa-clínica.	61
Figura 29.	Constancia de identificación botánica de <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck. “naranja valencia”	80

Figura 30.	Constancia de identificación botánica de <i>Citrus japonica</i> Thumb. “naranja enana”	81
Figura 31.	Informe técnico del análisis de Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas para el aceite esencial de <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck. “naranja valencia”	82
Figura 32.	Informe técnico del análisis de Cromatografía de Gases /Espectrometría de Masas para el aceite esencial de <i>Citrus japonica</i> L. Thumb. “naranja enana”	112

RESUMEN

El presente estudio de investigación tuvo como objetivo determinar la composición química y evaluar la actividad antibacteriana sinérgica de dos aceites esenciales del género *Citrus* siendo estos *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” de la zona de Chanchamayo. El método utilizado para la extracción de los aceites esenciales a partir del flavedo de los frutos fue el método de destilación por arrastre de vapor de agua obteniéndose un rendimiento de 0.36 y 0.12 % v/p con gravedad específica de 0.838 g/mL y 0.831 g/mL para *Citrus sinensis* L. Osbeck y *Citrus japonica* Thumb. respectivamente. La determinación de los compuestos químicos se realizó por el método de Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (CG/EM) siendo los componentes con mayor abundancia en el cromatograma de identificación: D-Limoneno, β -Mirceno y α -Pineno para ambos aceites esenciales. La determinación de la actividad antibacteriana individual *in vitro* se realizó mediante el método de microdilución colorimétrica demostrando actividad significativa frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* cepa-clínica y *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica de la cual se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) siendo 40, 10, 40, 2.5 μ L/mL para *Citrus sinensis* L. Osbeck y 10, 5, 10, 1.25 μ L/mL para *Citrus japonica* Thumb. respectivamente mas no se consiguió ninguna actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* cepa-clínica 1 y *Escherichia coli* cepa-clínica 2 y por último se realizó la determinación de la actividad antibacteriana combinada de ambos aceites esenciales para determinar el sinergismo antibacteriano mediante el método de microdilución por “tablero de ajedrez” para las cepas que tuvieron resultados significativos a la actividad antibacteriana individual hallándose el sinergismo mediante el índice de concentración

fraccionaria inhibitoria obteniendo como resultado que los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck y *Citrus japonica* Thumb. poseen actividad antibacteriana individual y sinérgica frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* cepa-clínica y *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica.

Palabras clave: *Citrus sinensis* L. Osbeck, *Citrus japonica* Thumb., aceite esencial, sinergismo antibacteriano.

SUMMARY

The objective of this research study was to determine the chemical composition and evaluate the synergistic antibacterial activity of two essential oils of the genus *Citrus*, these being *Citrus sinensis* L. Osbeck "orange valence" and *Citrus japonica* Thumb. "Dwarf orange" from the area of Chanchamayo. The method used for the extraction of essential oils from the fruit flavedo was the steam distillation method, obtaining a yield of 0.36 and 0.12% v / p with specific gravity of 0.838 g / mL and 0.831 g / mL for *Citrus sinensis* L. Osbeck and *Citrus japonica* Thumb. respectively. The determination of the chemical compounds was carried out by the Gas Chromatography / Mass Spectrometry (GC / MS) method, with the components with greater abundance in the identification chromatogram: D-Limonene, β -Mircene and α -Pinene for both oils essentials. The determination of the individual antibacterial activity in vitro was performed by the colorimetric microdilution method demonstrating significant activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* strain-clinical and *Staphylococcus epidermidis* strain-clinical of which Concentration was determined Minimum Inhibitory (CMI) being 40, 10, 40, 2.5 μ L / mL for *Citrus sinensis* L. Osbeck and 10, 5, 10, 1.25 μ L / mL for *Citrus japonica* Thumb. respectively, no activity was achieved against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* strain-clinic 1 and *Escherichia coli* strain-clinic 2 and finally the determination of the combined antibacterial activity of both essential oils was carried out to determine the antibacterial synergism by means of the microdilution method by "chessboard" for the strains that had significant results to the activity individual antibacterial finding the synergism by the index of fractional inhibitory concentration, obtaining as a result the essential oils of *Citrus sinensis* L. Osbeck and *Citrus japonica* Thumb. they possess individual and synergistic antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* strain-clinical and *Staphylococcus epidermidis* strain-clinic.

Key words: *Citrus sinensis* L. Osbeck, *Citrus japonica* Thumb., Essential oil, antibacterial synergism.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde tiempos antiguos ya sea con fines culinarios, medicina tradicional (analgésicos, antisépticos, sedantes, espasmolíticos, anestésicos y antiinflamatorios), etc. Los cuales debido a sus propiedades estimulantes o sedantes se emplean también en aromaterapia por eso se viene recuperando su interés debido a que presentan gran variedad de bioactividades. En la actualidad existe un gran interés en las propiedades farmacológicas de las plantas aromáticas las cuales pueden atribuirse en parte a sus aceites esenciales los cuales son mezclas volátiles complejas de metabolitos secundarios que a veces superan los 100 componentes con olor característico que pueden extraerse de todos los órganos de la planta extendiéndose su uso a la industria como saborizantes, agentes de limpieza, cosmética y perfumes^{1,2}.

La resistencia antimicrobiana es un problema creciente no solo en América Latina sino a nivel mundial y comienza a incrementarse de manera alarmante ya que las bacterias vienen evolucionando, sobreviviendo y multiplicándose en cepas más difíciles de tratar causando enfermedades graves³. La creciente demanda de antibióticos ha puesto en relieve la importancia de los extractos vegetales y en especial a algunos aceites esenciales como agentes antibióticos según Zekaria D⁴. La resistencia antimicrobiana ha llevado no solo a la búsqueda de nuevos antimicrobianos sino al estudio combinado de estos para que de esta manera se proporcione una cobertura de amplio espectro debido al sinergismo entre ellos^{4,5}.

Los aceites esenciales del género *Citrus* ya sean los extraídos de hojas, flavedo y flores etc. poseen propiedades terapéuticas para la ansiedad, el estrés, el insomnio, actividad antioxidante y acción antimicrobiana.

Las esencias obtenidas del flavedo de los frutos poseen un color intenso debido a la presencia de cumarinas que contienen compuestos calmantes del sistema nervioso y relajantes indicadas en casos de estrés leve, agitación, hiperactividad e insomnio^{6,7}.

De esta manera podemos manifestar la importancia que conlleva el estudio de los aceites esenciales provenientes de nuestra exquisita flora peruana para así formar parte de tratamientos tradicionales es necesario volver a nuestro antepasado para lo cual se seleccionaron dos especies: *Citrus sinensis* L. Osbeck y *Citrus japonica* Thumb., plantas que carecen de estudios en sinergismo antimicrobiano. *Citrus japonica* Thumb. no presenta estudios en nuestro país y en otros países sobresalen en los estudios de antioxidantes^{8,9} sin embargo los estudios sobre la composición química y las actividades biológicas de los aceites del flavedo son limitados para esta especie según Wang Y. et al ⁷. Es así como el presente trabajo no solo busca revalorar y registrar la riqueza biológica de nuestro Perú sino, también acelerar el proceso en estudios de sinergismos antibacterianos en aceites esenciales para dar respaldo científico al conocimiento popular que permitirá desarrollar nuevas fuentes de medicamento contribuyendo a proteger nuestra biodiversidad. Por lo mencionado, los objetivos son:

1.1. Objetivo General.

Determinar los compuestos químicos y actividad antibacteriana sinérgica de la combinación de dos aceites esenciales del género *Citrus* de la zona de Chanchamayo.

1.2. Objetivos específicos.

1. Determinar los compuestos químicos de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb “naranja enana” mediante Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (CG/EM).

2. Determinar la CMI individual *in vitro* de los aceites esenciales extraídos por el método de microdilución colorimétrica frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* cepa-clínica, *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica, *Escherichia coli* cepa-clínica 1, *Escherichia coli* cepa-clínica 2 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
3. Determinar el sinergismo antibacteriano *in vitro* de la combinación de dos aceites esenciales del género *Citrus* por el método de microdilución en placa por tablero de ajedrez.

1.3. Hipótesis

Los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” de la zona de Chanchamayo, poseen actividad antibacteriana sinérgica *in vitro*.

II. GENERALIDADES

2.1. Antecedentes generales.

Nacionales

Juárez *et al.* (2010) realizaron el estudio de caracterización de compuestos químicos, determinación de la actividad antibacteriana y formulación de formas farmacéuticas de uso local del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. en Lima. Los métodos utilizados fueron Cromatografía de Gas / Espectrómetro de Masa (CG/EM) donde se identificaron los compuestos químicos Limoneno, β -linalol, decanal y 2(10)-pineno(1S,5S)-(-)- y mediante el método de difusión en agar se obtuvo como resultado actividad antibacteriana contra cepas de microorganismos Gram (+): *Staphylococcus aureus* ATCC 25933 y *Staphylococcus epidermidis* cepa clínica; pero no para cepas de microorganismos Gram (-): *Bacillus subtilis* cepa clínica, *Escherichia coli* cepa clínica y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 permitiendo elaborar formas farmacéuticas de uso local como gel, loción y colutorio¹⁰.

Internacionales

García (2013) realizó un estudio sobre la organización de la diversidad genética de los cítricos en Valencia para aclarar su organización y filogenética mediante el empleo de marcadores moleculares y métodos de genotipado por ello se ha realizado un análisis de la diversidad y organización genética cuantificándose la contribución de los tres principales taxones de cítricos (*C. reticulata*, *C. maxima* y *C. medica*) a los genomas de las especies secundarias y cultivares modernos mediante marcadores moleculares de Inserción-Delección (indel) y marcadores de tipo microsatélite (SSR) también se ha definido la estructura genética a partir de los datos de secuenciación de 27 fragmentos de genes nucleares relacionados con la biosíntesis de compuestos relacionados con la calidad de los cítricos y genes relacionados con respuesta a estreses abióticos es así como la filogenia nuclear ha permitido determinar la relación existente entre la especie *C. reticulata* y *Fortunella* que se diferencian del grupo

formado por las dos principales especies de cítricos (*C. maxima* y *C. medica*). A partir de este estudio se han desarrollado marcadores moleculares tipo SNP de gran utilidad para establecer la huella genética del germoplasma para la obtención de nuevas variedades de cítricos de alta calidad conservando los recursos genéticos existentes¹¹.

Guerra *et al.* (2014) determinaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de cortezas de naranja (*Citrus sinensis*) var. Valencia frente a microorganismos Gram positivos (+) y Gram negativos (-) en Venezuela mediante el método de susceptibilidad de difusión en discos de Kirby-Bauer utilizando las concentraciones de aceite esencial diluidas en alcohol de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100% obteniendo resultados positivos a partir del 10 % para microorganismos Gram (-): *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 con un CMI de 10 y 9 % respectivamente pero no para Gram (+): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 cuyas cepas fueron totalmente resistentes ¹².

Torrenegra *et al.* (2017) realizaron el estudio de Actividad antibacteriana *in vitro* de aceites esenciales de diferentes especies del género *Citrus* mediante la técnica de microdilución en Colombia.

Se obtuvo como resultados que la especie *Citrus sinensis* presenta actividad antimicrobiana promisorio frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 900 µg/mL, 1000 µg/mL, 700 µg/mL, 800 µg/mL, 700 µg/mL respectivamente y una concentración mínima bactericida (CMB) >1000 µg/mL para todos los microorganismos mencionados ¹³.

Fitsiou *et al.* (2016) analizaron el perfil fitoquímico y evaluaron las actividades biológicas de los aceites esenciales derivados de las especies de plantas aromáticas griegas *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata*, *Pimpinella anisum* y *Fortunella margarita* (kumquat) en Reino Unido mediante el método de difusión en disco se obtuvo como resultado

actividad antifúngica significativa de *Fortunella margarita* contra los hongos *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus niger* pero no se logró demostrar la actividad antibacteriana para las cepas de *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *S. aureus* y *L. monocytogenes* así como también se determinó 45 compuestos para esta especie siendo los componentes mayoritarios el limoneno, mirceno y α -germacreno con 93,8%, 2,7% y 1,34% respectivamente por último la evaluación antioxidante fue de 34.5 ± 0.07 % de actividad depuradora de radicales mediante el ensayo de DPPH⁸.

Choi (2005) determinó y analizó los componentes característicos del olor de Kumquat (*Fortunella japonica* Swingle) Peel Oil en Korea mediante el método de prensado en frío para la extracción del aceite esencial de la cáscara y mediante el método GC-MS obteniéndose como resultados 82 compuestos químicos de los cuales los principales fueron limoneno (93,73%), mirceno (1,84%) y acetato de etilo (1,13 %) siendo el formiato de citronelilo y el acetato de citronelina los componentes característicos del olor del aceite esencial este último es el componente de olor más similar al kumquat ¹⁴.

Wang *et al.* (2012) realizaron y analizaron el estudio de la composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de Kumquat (*Fortunella crassifolia* Swingle) Peel. Se obtuvo como resultado hidrocarburos terpenoides (85,42%), alcoholes (3,3%), cetonas (1,8%), ésteres (1,72%) y aldehídos (0,18%). Los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para Gram (-): *E. coli* y *S. typhimurium* varió de 50-70 $\mu\text{g/mL}$, Gram (+): *S. aureus* y *B. cereus* los cuales fueron de 37,5 a 67,5 $\mu\text{g/mL}$ y antifúngica hacia *Candida albicans* cuyo valor fue de 70,0 $\mu\text{g/mL}$. Los valores de la concentración mínima bactericida (CMB) para Gram (-) varió de 52,5-72,5 $\mu\text{g/mL}$, Gram (+) fue de 40-70 $\mu\text{g/mL}$ y el del hongo fue de 72,5 $\mu\text{g/mL}$ ⁷.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Plantas Medicinales.

El 80 % de la población en el mundo hace uso de las plantas como una alternativa para tratar enfermedades según la Organización Mundial de la Salud (OMS) debido a su accesibilidad es así como ocupan un lugar privilegiado como agentes terapéuticos más aún en nuestro Perú que es uno de los países con mayor biodiversidad en el planeta.

La naturaleza nos brinda plantas que elaboran su metabolito secundario que es aquella sustancia orgánica derivada de la biosíntesis que posee acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial sobre un organismo y que puede estar formando parte de las sustancia de reserva de la planta (carbohidratos), cumplir funciones específicas (enzimas) o ser el producto final que se excreta por órganos como flores y frutos (aceites esenciales) o por razones específicas por la epidermis (gomas y resinas).

Este aceite esencial se encuentra distribuido en todo el tejido de la planta en diferentes concentraciones de la cual va depender la técnica extractiva cuya adquisición y su aprovechamiento, no solo la realiza el hombre sino también los animales¹⁵⁻¹⁷.

2.2.2. Plantas aromáticas.

Son plantas medicinales cuyos principios activos se encuentran constituidos total o parcialmente por esencias que desprenden de sus hojas o flores aromas cuyos usos principales son como condimento, uso medicinal curativo o preventivo y como repelente natural de plagas y representan alrededor de 0,7 % del total de plantas medicinales^{17,18}. Las plantas aromáticas tienen dos vías de biosíntesis: La vía de los terpenos inicia por el isopentil-pirofosfato que por polimerización da origen a cadenas carbonadas que

originaran a monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos a partir de estas moléculas hidrocarbonadas se realizan reacciones de óxido-reducción y, la vía de fenilpropanos aunque es menos frecuente elabora por reacciones de isomerización: fenoles, ácidos, cumarinas que sirven de base para otras moléculas como lactonas y metil-éter¹⁹.

2.2.3. Familia Rutaceae.

La familia Rutaceae se encuentra ubicada en zonas tropicales, subtropicales, y algunas especies se encuentran en zonas templadas del planeta presentando 25 géneros y 76 especies generalmente entre árboles, arbustos, en ocasiones plantas herbáceas y lianas de 3-5 metros de altura en el Perú, que se caracterizan taxonómicamente por tener hojas simples divididas en segmentos en los cuales se encuentran aceites esenciales. Las flores son bisexuales pocas veces unisexuales, el pistilo se encuentra sobre una especie de disco basal y el fruto puede ser solitario o en manojos de 2 a 5 en forma de cápsula, esquizocarpo, baya carnosa, sámara o drupa con 4 a 5 cavidades y hasta 10 en limones y naranjas pudiendo ser carnoso e indehiscente como en el género *Citrus*, las semillas tienen embrión curvo y pueden o no presentar endospermo. Los metabolitos secundarios que se encuentran en esta familia son los alcaloides, cumarinas, cromanos, flavonoides, lignanos, limonoides, terpenos, aceites esenciales entre otros con actividad biológica²⁰⁻²².

2.2.4. Género *Citrus*.

El género *Citrus* proviene del Asia tropical y subtropical conformado por 16 especies constituida en dos sub-géneros: Papeda y Eucitrus. Las principales especies del género *Citrus* son: *Citrus sinensis* (Naranja dulce), *Citrus aurantium* (naranja agria), *Citrus reticulata* (Mandarina), *Citrus aurantifolia* (Limón), etc sin dejar de mencionar

la gran cantidad de procesos de hibridación y de apomixis (poliembrionía nuclear) que presentan, dificultando su clasificación²³⁻²⁵.

Los árboles y arbustos generalmente son espinosos con hojas simples y compuestas con glándulas puntiformes que se observan como puntos translúcidos frente a la luz y que contienen aceites aromáticos en hojas y frutos. Las flores blancas o purpúreas, solitarias por lo general son muy aromáticas ²².

Las principales zonas de producción de cítricos en el Perú según el Ministerio de Agricultura son: Ica, Lima, Junín, Cusco, Huánuco, San Martín, Ucayali, La Libertad y Tumbes para naranjas; Lima, Junín, Ica, Puno y Ucayali para mandarinas y Lima, Ica, Junín, Ayacucho, Cusco y Ucayali para el tangelo siendo la mandarina y el tangelo más apreciados por los consumidores en todo el mundo cuyas exportaciones siguen creciendo cada año²⁶.

2.2.5. Plantas Medicinales en estudio.

2.2.5.1. *Citrus sinensis* L. Osbeck (ver Anexo 1).

CLASIFICACION TAXONOMICA	
DIVISION	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	ROSIDAE
ORDEN	SAPINDALES
FAMILIA	RUTACEAE
GENERO	<i>Citrus</i>
ESPECIE	<i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck

Sinónimos: *Citrus aurantium* var. *sinensis* L., *C. aurantium* Lour., non L^{27,28}.

Nombres comunes: “Naranja valencia”, “naranja dulce”.

Descripción: La planta tiende a ser de forma cónica y en la edad adulta es de forma esférica; la raíz es pivotante con hasta 2 m por debajo de la superficie; el tronco tiene de 3 ó 4 ramas principales; las hojas miden de 4 a 8 cm unifoliadas,

gruesas, pecíolos alados y glándulas con aceites; el fruto es hesperidio, indehisciente oblongo o globoso con endocarpio carnoso y abundante jugo^{29,30}.

Distribución geográfica: La producción en el Perú se realiza en las regiones de Junín (55%), San Martín (11%), Lima (7%), Ica (6%), Puno (5%) y Cusco (5%)³¹.

Usos de la especie: Las hojas se utilizan en infusión para calmar los nervios y palpitaciones del corazón, la flor se utiliza en infusión como sedante y por último el jugo de naranja ayuda a evitar el resfrío y el reumatismo³².



Figura 1. *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia”

2.2.5.2 *Citrus japonica* Thumb. (ver Anexo 2).

CLASIFICACION TAXONOMICA	
DIVISION	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	ROSIDAE
ORDEN	SAPINDALES
FAMILIA	RUTACEAE
GENERO	<i>Citrus</i>
ESPECIE	<i>Citrus japonica</i> Thumb.

Sinónimo: *Atalantia hindsii* (Champ. Ex Benth.) Oliv. ex Benth, *Citrus aurantium* subsp. japónica (Thunb.) Engl., *Citrus aurantium* subvar. madurensis (Lour.) Engl., *Citrus aurantium* subvar. margarita (Lour.) Engl., *Citrus aurantium* subvar. spinosa Siebold & Zucc. ex Engl., *Citrus aurantium* var. globifera Engl., *Citrus*

aurantium var. japónica (Thunb.) Hook, *Citrus aurantium* var. oliviformis Rissso ex Loisel, *Citrus nobilis* var. inermis (Roxb.) Sagot, *Citrus hindsii* (Champ. Ex Benth.) Govaerts, *Citrus inermis* Roxb, *Citrus japónica* subfo. *crassifolia* (Swingle) Hiroe, *Citrus japónica* subfo. *hindsii* (Champ. Ex Benth.) Hiroe, *Citrus japónica* subfo. *margarita* (Lour.) Hiroe, *Citrus japónica* var. *madurensis* (Lour.) Guillaumin, *Citrus japónica* var. *margarita* (Lour.) Guillaumin, *Citrus kinokuni* Tanaka, *Citrus madurensis* Lour, *Citrus margarita* Lour, *Fortunella chintou* (Swingle) C.C. Huang, *Fortunella crassifolia* Swingle, *Fortunella hindsii* (Champ. ex Benth.) Swingle, *Fortunella japónica* (Thunb.) Swingle, *Fortunella margarita* (Lour.) Swingle, *Fortunella obovata* Tanaka, *Fortunella venosa* (Champ. Ex Benth.) C.C. Huang, *Sclerostylis hindsii* Champ. ex Benth²⁷.

Nombres comunes: “Jin gan”, “Kumquat”, “naranja enana”, “nagami”, “Kinkan”, “chikan”^{27,33,34}.

Descripción: El árbol es pequeño de 3 a 4 m de altura con copa densa; las hojas son pequeñas alargadas sin espinas; el fruto es ovalado muy pequeño de 3 a 4 cm de largo y de 2 a 3 cm de ancho cuyo peso equivale de 5 a 20 g con pepas y pulpa ácida; la cáscara es muy delgada, aromática y dulce de color anaranjado brillante³³⁻³⁴.

Distribución geográfica: La producción en el Perú por fuente propia se realiza en la zona de Chanchamayo de la región Junín.

Usos de la especie: Se consume de manera directa pero también bajo la forma de mermeladas, conservas, jarabes, salsas y bebidas alcohólicas que tienen actividad antioxidante con efecto antiinflamatorio, efecto anticancerígeno, actividad antibacteriana y como prevención de la obesidad^{33,9}.



Figura 2. *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana”

2.2.6. Aceites esenciales.

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias químicas complejas producto del metabolismo secundario de las plantas, se encuentran distribuidas en aproximadamente 60 familias de plantas³⁵ localizadas en diferentes partes como en raíces, tallos, hojas, frutos, flores y semillas³⁶ que contienen compuestos responsables de las fragancias de las plantas generalmente agradables que se clasifican de acuerdo a su origen (naturales, artificiales y sintéticos); naturaleza química (monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos) y consistencia (fluidas, bálsamos y oleorresinas)³⁵. Específicamente se encuentran en la proximidad de la superficie de la planta: Células oleíferas, pelos glandulosos, conductos o cavidades secretoras y se encuentran asociadas con gomas, resinas etc. brindando protección frente a insectos y herbívoros; forma parte del conjunto de elementos de comunicación química en la polinización por su volatilidad y olor³⁶; es importante mencionar que la calidad del aceite esencial va a depender de la variedad de la planta, condiciones de cultivo, época de recolección, parte de la planta, edad, métodos de extracción, etc³⁷⁻³⁸.

Existen factores que modifican la composición química de los aceites esenciales producidos durante el transcurso de la obtención y

conservación estos son: Origen botánico del aceite esencial, quimiotipo, ciclo vegetativo, condiciones ambientales, proceso de extracción que pueden influir en la composición final es por ello que se deben determinar las características organolépticas y propiedades físicas y químicas².

2.2.6.1. Extracción de aceites esenciales.

Se realiza dependiendo de la parte de la planta a emplear, variedad del material vegetal y estabilidad del aceite esencial. Se emplean diversos métodos de extracción el cual va a influir en la calidad del producto obtenido estos métodos pueden ser directos (extrusión y exhudación), destilación (directa, arrastre con vapor de agua y destilación-maceración) y extracción con solventes (solventes volátiles, solventes fijos y extracción con fluidos en estado supercrítico) con rendimiento de 0,01 a 10% de aceite esencial y un rendimiento medio para las plantas aromáticas de 1 a 2% del peso de la planta³⁷.

2.2.6.2. Importancia en la Salud.

Los aceites esenciales se utilizan en la industria farmacéutica para la obtención de diversos principios activos como anetol y eugenol o como excipientes y aromatizantes en la preparación de jarabes, suspensiones, elixires y otras formas farmacéuticas sin dejar de mencionar la aromaterapia que ha desarrollado tratamientos antiinfecciosos con resultados equivalentes a los de la antibioticoterapia; pero con disminución de la resistencia, menos efectos secundarios y sobre todo aumentando la inmunidad del organismo es decir es un eubiótico.

Los aceites esenciales pueden complementar y potenciar efectos para lograr sinergia con otras terapias establecidas y prevenir patologías. Los aceites esenciales tienen propiedades a distintos niveles del organismo como son: Sistema nervioso central (estimulantes, sedantes), sistema respiratorio (antibacterianos, expectorantes), sistema digestivo (carminativos, antibacterianos, vermífugos), cutáneo (antifúngicos, antibacterianos, antiinflamatorios, irritantes, etc.)^{2,19,36}.

2.2.7. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

Los aceites esenciales han sido utilizados en la medicina tradicional, debido a su capacidad antimicrobiana para el tratamiento de enfermedades infecciosas. La capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales posiblemente se deba a la acción combinada de varios compuestos, más que atribuirse a uno solo de ellos e incluso algunos estudios manifiestan que los elementos trazas cumplen un papel crítico en la actividad antimicrobiana posiblemente debido a un efecto sinérgico entre ellos. La resistencia antibacteriana es cada vez más preocupante por lo que una de las soluciones a este problema se encuentra en la búsqueda de alternativas de control antimicrobiano de origen natural dentro de ello se encuentran los aceites esenciales con grandes potencialidades³⁹.

Los aceites esenciales son más activos contra cepas Gram (+) probablemente debido que las Gram (-) poseen pared celular de naturaleza lipofílica difícil de interaccionar. Los mecanismos de acción de los terpenoides probablemente sean las interrupciones en las membranas celulares por compuesto lipofílico debido a que Usano J. et al. menciona que una disminución de la hidrofobicidad de ciertos diterpenos por la adición de grupos metilo hacen disminuir drásticamente la actividad antimicrobiana es por ello que una característica importante de los aceites esenciales es su

hidrofobicidad la cual los hace más permeables a las membranas lipídicas citoplasmáticas es por ello que el mecanismo de acción puede estar dado por degradación de la pared celular y daño de la membrana citoplasmática que causan la liberación del contenido citoplasmático al exterior de la célula ^{7,39}.

2.2.7.1. Asociación de aceites antimicrobianos.

La combinación de aceites esenciales antibacterianos puede tener como resultados los siguientes efectos⁴⁰:

Sinérgico: El efecto de la combinación de compuestos químicos es mayor que la suma de la actividad antibacteriana de los compuestos individuales.

Aditivo: El efecto de la combinación de compuestos químicos es igual a la suma de la actividad antibacteriana individuales.

Indiferente: El efecto de la combinación de compuestos químicos no afecta a la actividad antibacteriana de los compuestos individuales.

Antagónico: El efecto de la combinación de los compuestos químicos es menor que la suma de sus efectos individuales.

El efecto de la combinación de los aceites esenciales para evaluar la actividad antibacteriana sinérgica se determina mediante el índice de concentración inhibitoria fraccional (ICIF) basado según Meletiadis J. et al. en la teoría de interacción cero de aditividad de Loewe en la cual menciona que una droga no puede interactuar consigo misma y por ello el efecto de su interacción con otras siempre será aditiva y se determina como la división del CMI cuando se usa combinado el medicamento sobre el CMI cuando se usa solo el medicamento⁴¹.

2.2.7.2. Evaluación de la sinergia antimicrobiana.

El sinergismo antibacteriano se basa en el principio de que en combinación los compuestos químicos pueden mejorar la eficacia, reducir la toxicidad, disminuir efectos secundarios adversos, reducir la dosis, aumentar la biodisponibilidad y reducir la resistencia a los antibacterianos convencionales; muy aparte de la viabilidad económica ⁴⁰.

Una de las alternativas para combatir la resistencia antibacteriana es el uso de extractos, aceites esenciales etc, que individualmente o de manera combinada con otras especies vegetales o con fármacos antimicrobianos pueden generar esta actividad sinérgica aprovechando de esta manera estos metabolitos secundarios que las plantas utilizan en su defensa contra microorganismos⁴².

En la industria alimentaria el sinergismo antibacteriano tiene alto impacto reduciendo las concentraciones de los aditivos químicos por otra parte la adición de antibacterianos naturales a empaques de alimentos ha tomado gran valor a nivel mundial⁴³.

En diversos estudios se ha demostrado que los componentes de los aceites esenciales como el timol y carvacrol pueden tener actividad sinérgica con antibióticos como la penicilina frente a *E.coli* y *S.typhimurium*. El eugenol con ampicilina contra *S.cricetti* y *Streptococcus gordonii*, en los cuales se exhibe sinergismo antibacteriano dichos estudios se llevaron a cabo debido a la resistencia a múltiples fármacos llevando a la ineficacia de muchos tratamientos. Es así como se han podido encontrar soluciones a esta problemática gracias a las bondades de la naturaleza animando a muchos investigadores a realizar

dichos estudios de sinergismo antimicrobiano evaluando nuevas estrategias como la nanoencapsulación proporcionando una interesante plataforma para el futuro⁴⁴.

Según Imael N. et al. existen mecanismos generales que explican el sinergismo de la interacción antimicrobiana estas son las siguientes⁴⁵:

- Inhibición secuencial de una vía bioquímica común.
- Inhibición de enzimas protectoras.
- Uso de agentes activos en la pared celular para mejorar la captación de antimicrobianos.

2.2.8. Metabolitos secundarios con acción antimicrobiana.

En muchos países en desarrollo la falta de asistencia sanitaria ha causado que muchas personas utilicen la medicina tradicional como una alternativa ya que son accesibles⁴⁶. Los beneficios de las plantas medicinales se deben a la combinación de productos secundarios y estos en su mayoría son alcaloides, esteroides, taninos y compuestos fenólicos que se pueden depositar en zonas específicas o en todas las partes de la planta⁴⁷.

Las plantas producen más de 100.000 metabolitos secundarios para defenderse de microorganismos, insectos y otros animales, éstas se dividen en fitoanticipinas que se encuentran de forma continua y fitoalexinas que aumenta su producción ante la invasión bacteriana como respuesta. Las plantas poseen una capacidad ilimitada para sintetizar diferentes compuestos químicos, es así que los que poseen actividad antimicrobiana son un número extenso, pero si nos enfocamos en aquellos de interés en el país podemos decir que los principales grupos químicos con actividad antimicrobiana según Domingo D. et al. son los siguientes⁴⁸.

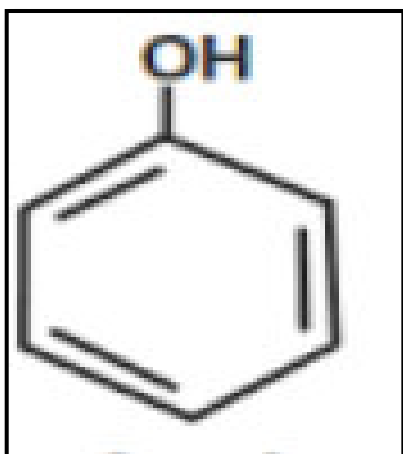


Figura 3. Estructura del Fenol

Fenoles simples

La cantidad de grupos hidroxilo (OH) en el anillo al parecer está relacionado con la toxicidad antimicrobiana cuyo mecanismo de acción antimicrobiano podría ser la inhibición enzimática debido a reacciones de grupos sulfhidrilo o por interacciones no específicas con proteínas⁴⁸.

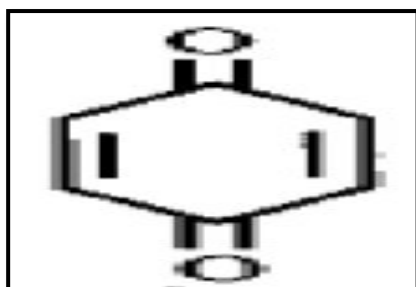


Figura 4. Estructura de la Quinona

Quinonas

Poseen amplia actividad antimicrobiana formando complejos con los aminoácidos hidrofílicos de las proteínas inactivando de esta manera la proteína y anulando su función^{47,48}.

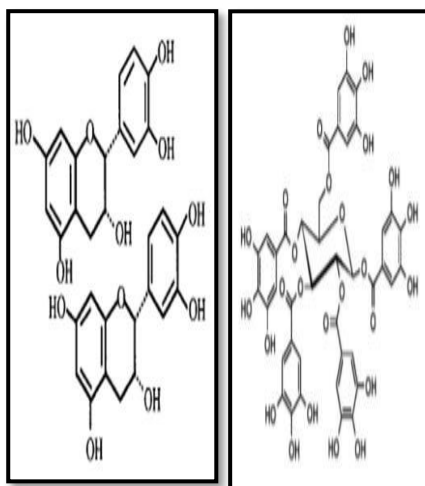


Figura 5. Estructura de tanino condensado-hidrolizable

Taninos

Se encuentra conformado por sustancias fenólicas poliméricas divididas en hidrolizados y condensados⁴⁸ poseen actividad antifúngica y antibacteriana¹ cuyo mecanismo de acción probablemente sea inactivar adhesinas microbianas, enzimas, proteínas de transporte de envoltura celular, etc a la vez que pueden ser tóxicos para hongos filamentosos, levaduras y bacterias⁴⁷.

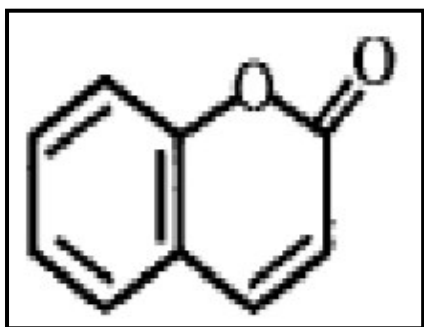


Figura 6. Estructura de Cumarinas

Cumarinas

Tienen propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas y vasodilatadoras⁴⁷ cuyo mecanismo de acción antimicrobiano y viral al parecer es la interacción con el ADN eucariota⁴⁸.

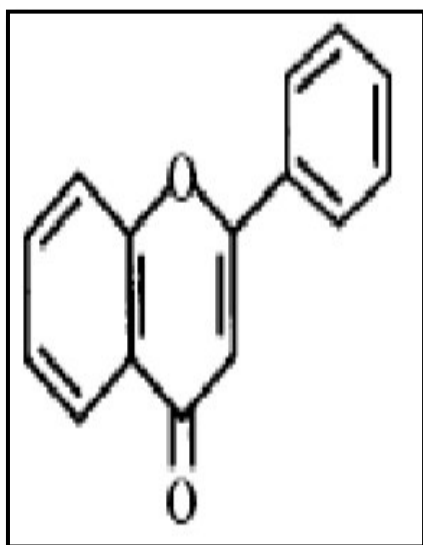


Figura 7. Estructura de Flavonas

Flavonas y compuestos relacionados

Se encuentra conformada por estructuras fenólicas con grupo carbonilo poseen actividad antioxidante, antiinflamatoria y antitumoral su mecanismo de acción antimicrobiano probablemente sea debido a la formación de complejos proteicos extracelulares. Los flavonoides tienen generalmente actividad antiviral⁴⁷⁻⁴⁸.

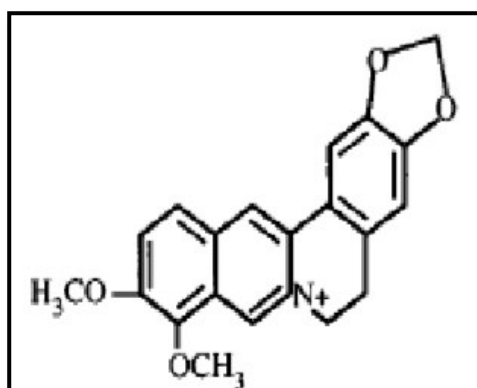


Figura 8. Estructura de Alcaloides

Alcaloides

Se encuentra conformado por compuestos nitrogenados heterocíclicos cuya principal actividad biológica es analgésica, antiespasmódico y bactericida⁴⁷ cuyo mecanismo de acción antibacteriano al parecer es la intercalación entre la pared celular y el AND del microorganismo⁴⁸.

Compuestos naturales con actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*

Microorganismos como el *Staphylococcus aureus* se encuentran relacionados con infecciones como bacteriemias, infecciones de heridas, piel y tejidos blandos, etc. El mecanismo de acción de los compuestos químicos que tienen actividad frente a este microorganismo parece ser la alteración de la membrana citoplasmática de la bacteria. Los taninos de *Punica granatum* y naftoquinonas de *Tabebuia avellanedae* han presentado actividad frente a *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina es así como dichos productos naturales son de gran interés para el desarrollo de la terapia antibacteriana⁴⁸.

III. PARTE EXPERIMENTAL

Entidades que permitieron el desarrollo de la investigación.

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los meses de mayo del 2018 a diciembre del 2018. El desarrollo de la clasificación taxonómica se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La extracción de los aceites esenciales se realizó mediante el método de arrastre de vapor de agua en el Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La determinación de los compuestos químicos de los aceites esenciales se realizó en el Laboratorio de Investigación y Certificaciones (LABICER) de la Facultad de Ingeniería Química y Textil de la Universidad Nacional de Ingeniería. Los análisis de actividad antibacteriana individual y sinérgica se llevaron a cabo en el Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología “Marco Antonio Garrido Malo” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Tipo de estudio.

El presente estudio es experimental, descriptivo, explicativo y analítico.

3.1. METODOLOGÍA

3.1.1. Recolección e identificación de las especies en estudio.

La recolección se realizó en el departamento de Junín, provincia de Chanchamayo en mayo del 2018 debido a que es la región de mayor producción de naranjas según el Ministerio de Agricultura y Riego del Perú³¹.

Se seleccionaron los frutos en buen estado y se trasladaron en recipientes cerrados y rotulados para su posterior lavado con agua corriente eliminando de esta manera restos de partículas extrañas, tierra, etc. recolectándose 69,4 Kg de *Citrus sinensis* L. Osbeck y 25,5 Kg de *Citrus japonica* Thumb. obteniéndose 8 Kg de flavedo de cada especie teniendo en consideración que todas las actividades

se realizaron en sombra debido a la naturaleza volátil de los aceites esenciales.

Tabla 1. Plantas seleccionadas y datos de recolección.

Especie	Familia	Nombre Común	Lugar de recolección	Parte estudiada
<i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck	Rutaceae	Naranja Valencia	Pichanaki, Chanchamayo, Junín	Pericarpio
<i>Citrus japonica</i> Thumb.	Rutaceae	Naranja Enana	San Ramón, Chanchamayo, Junín	Pericarpio

3.1.2. Estabilización de las muestras.

Las muestras recolectadas fueron acondicionadas en un lugar fresco a temperatura ambiente luego se extrajo el flavedo con una máquina peladora de naranja y un cuchillo un día antes de la extracción de los aceites esenciales.

3.1.3. Clasificación taxonómica de las especies.

Las especies *Citrus sinensis* L. Osbeck y *Citrus japonica* Thumb. fueron identificados por el Blgo. Mario Julio Benavente Palacios en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (ver Anexo 1 y 2).

3.1.4. Extracción de aceites esenciales.

Se realizó mediante el método de destilación por arrastre de vapor de agua en un equipo de acero inoxidable, esta es una técnica de alto rendimiento utilizada para aceites esenciales muy volátiles

teniendo como producto final una mezcla inmiscible de agua y aceite⁴⁹. Se trabajó con 8 Kg de pericarpio de ambas especies vegetales estudiadas obteniéndose como producto final agua más aceite esencial que fue recibido en una pera de decantación de 250 mL donde fue separado el aceite del agua por decantación , luego se agregó sulfato de sodio anhidro para deshidratar el aceite esencial por último se conservó refrigerado (4-8°C) en frascos ámbar herméticos y rotulados debido a la naturaleza fotosensible del aceite esencial hasta la realización de los respectivos análisis¹².

3.1.4.1 Rendimiento de los aceites esenciales.

El porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales (%RA), se determinó con los volúmenes de los aceites esenciales extraídos por el método de destilación por arrastre de vapor de agua este volumen se midió con una probeta de 50 mL para la especie *Citrus sinensis* L. Osbeck y con una probeta de 10 mL para la especie *Citrus japonica* Thumb. El % RA se determinó por el método gravimétrico-volumétrico, aplicando la siguiente fórmula⁵⁰.

$$\%RA = \frac{\text{Vol. A (mL)} \times 100}{P_{\text{muestra}}(\text{g})}$$

Donde:

%RA: Porcentaje del rendimiento del aceite esencial.

Vol. A: Volumen del aceite esencial extraído en mL.

P_{muestra}: Peso de la muestra en g.

3.1.5. Análisis fisicoquímico de los aceites esenciales.

El análisis organoléptico incluye el aspecto, color, olor, sabor y textura también se determinó el parámetro fisicoquímico de densidad relativa^{46,47}.

Determinación de la densidad relativa

Se colocó el peso del picnómetro vacío y seco a 20 °C, se pesó cuidadosamente el picnómetro con la muestra y luego con el agua destilada ambos a 20 °C por triplicado. La densidad relativa se determinó aplicando la siguiente fórmula:

$$D_{20} = \frac{M1 - M}{M2 - M}$$

Donde:

D₂₀: Densidad relativa a 20°C.

M1: Peso del picnómetro con la muestra (g).

M2: Peso del picnómetro con el agua destilada (g).

M: Peso del picnómetro vacío (g).

3.1.6. Determinación de los compuestos químicos en los aceites esenciales.

El análisis se realizó en un Cromatógrafo de Gases SHIMADZU GC-2010 Plus con automuestreador SHIMADZU AOC-6000 y detector de espectrometría de masas SHIMADZU GCMS-QP210 Ultra provisto de una columna RESTEK RTX-5MS, 30m x 0.25mm ID x 0.25 µm df. Serial:1346249 con temperatura inicial de 50 °C, temperatura final 110 °C, inyección 220 °C, volumen de inyección 200 µL, el gas transportador fue helio con un flujo total de 18.4 mL/min mediante este sistema se logró detectar e identificar los

compuestos químicos de los aceites esenciales por comparación computarizada con los espectros de masa de los estándares de referencia de la base de datos de la biblioteca del equipo utilizado.

3.1.7. Evaluación de la actividad antibacteriana individual de cada aceite esencial mediante el método de microdilución colorimétrica.

3.1.7.1. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de microdilución colorimétrica.

3.1.7.1.1. Fundamento.

El método de microdilución es estandarizado, preciso, sencillo y de bajo costo por lo que se consideró el más adecuado para el estudio teniendo como fundamento que al hacer uso de resazurina que es un colorante redox las células bacterianas activas causan la reducción de la resazurina (púrpura-azul) a resorufina (rosado-incoloro) pudiendo reducirse aún más a hidrorresorufina de esta manera se cuantifica indirectamente el metabolismo bacteriano según Elshikh⁵³ (ver Figura 9).

Se utilizaron microdiluciones cuantitativas de un grupo de muestras para determinar la concentración mínima que inhibe el desarrollo bacteriano (CMI) siguiendo los protocolos del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio CLSI M07-A10 modificado⁵³⁻⁵⁵.

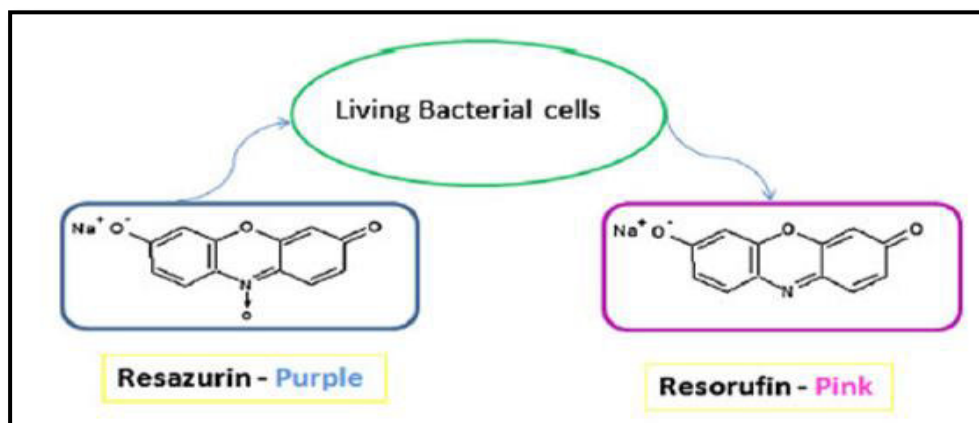


Figura 9. Reacción de reducción de resazurina (púrpura-azul) a resorufina (rosado-incoloro).

3.1.7.1.2. Microorganismos de estudio.

Para el presente estudio se trabajó con los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* cepa-clínica, *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* cepa-clínica 1 y *Escherichia coli* cepa-clínica 2 que fueron brindados por el Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco A. Garrido Malo" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

En el presente trabajo de investigación se realizó la sensibilidad antibacteriana mediante el método de difusión en agar para las cepas de *Staphylococcus aureus* cepa-clínica (Figura 10) y *Staphylococcus*

epidermidis cepa-clínica (Figura 11) cuyos resultados se muestran en la Tabla 2. El método de difusión en agar es una prueba de sensibilidad que permite predecir la evolución de la infección y detectar una resistencia relevante *in vitro* que está causando el microorganismo en estudio es por ello que se consideró importante realizar dicho ensayo para complementar este estudio⁵⁶.

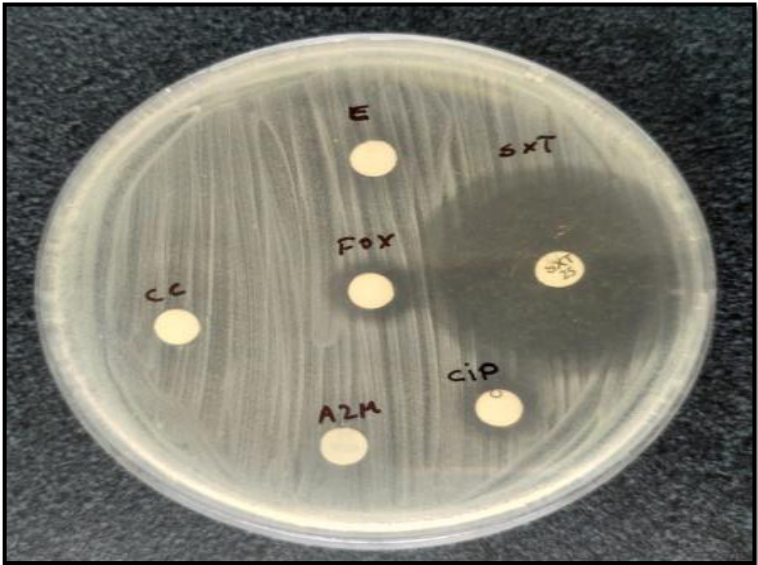


Figura 10. Prueba de sensibilidad antibacteriana para *Staphylococcus aureus* cepa-clínica.

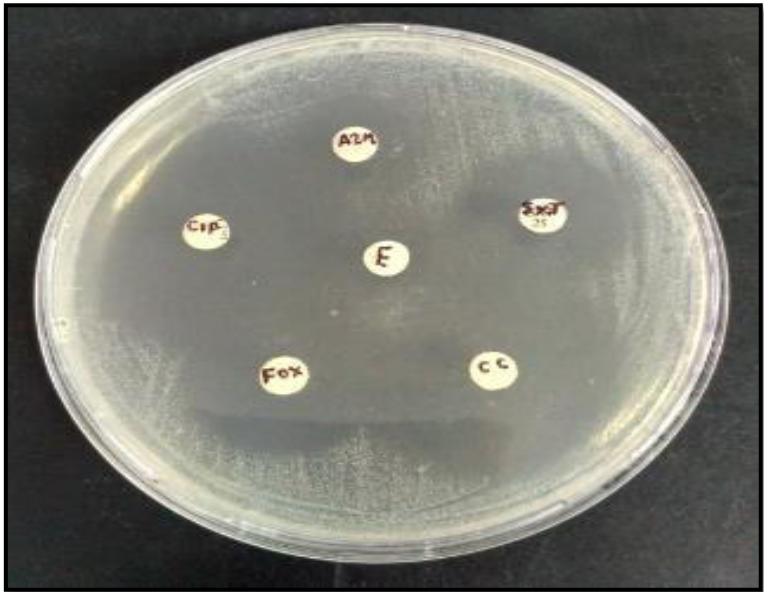


Figura 11. Prueba de sensibilidad antibacteriana para *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica.

Tabla 2. Su *Staphylococcus aureus* cepa-clínica y *Staphylococcus epidermidis*.

Antibacterianos	Medida de los diámetros (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i> cepa-clínica	<i>Staphylococcus epidermidis</i> cepa-clínica
Trimetopim-Sulfametoxasol (SXT)	35(S)	27(S)
Cefoxitina (FOX)	11(R)	26(S)
Ciprofloxacino (CIP)	11(R)	36(S)
Clindamicina (CC)	-	34(S)
Azitromicina (AZM)	-	15(I)
Eritromicina (E)	-	15(I)

Interpretación: Se concluye que de acuerdo a lo descrito en el protocolo del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio CLSI M10 la cepa de *Staphylococcus aureus* cepa-clínica es una cepa de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente con el que se procederá a trabajar en el presente trabajo de investigación⁵⁷.

El *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (SARM) es una enfermedad emergente a nivel mundial cuya sepsis es un importante problema clínico y de salud pública mundial con opciones de tratamientos reducidos con una inminente resistencia a vancomicina causando fracasos terapéuticos causando el temor entre los profesionales de la salud ya que este microorganismo se encuentra migrando del ámbito hospitalario a la comunidad⁵⁸.

3.1.7.1.3. Preparación del control de esterilidad.

Se encuentra conformado por caldo Mueller-Hinton más resazurina en una proporción de 2000 µL a 10 µL respectivamente⁵⁹.

3.1.7.1.4. Preparación de las muestras.

Se preparó una solución stock de la muestra compuesto por 1640 µL de Caldo Mueller Hinton, 40 µL de Tween 80 y por último 320 µL de aceite esencial obteniéndose a partir de ello 10 diluciones en el rango de 0.3125-160 µL/mL para los dos aceites esenciales estudiados⁵⁹(ver Tabla 3).

Tabla 3. Microdilución de los aceites esenciales.

Paso	Aceite esencial (µL)	Fuente	Volumen (µL)	Caldo Mueller Hinton (µL)	Tween 80 (µL)	Conc. Final (µL/mL)
1	320		-	1640	40	160
2	-	Paso 1	1000	1000	-	80
3	-	Paso 2	1000	1000	-	40
4	-	Paso 3	1000	1000	-	20
5	-	Paso 4	1000	1000	-	10
6	-	Paso 5	1000	1000	-	5
7	-	Paso 6	1000	1000	-	2.5
8	-	Paso 7	1000	1000	-	1.25
9	-	Paso 8	1000	1000	-	0.625
10	-	Paso 9	1000	1000	-	0.3125

3.1.7.1.5. Preparación del control positivo.

En el presente trabajo se usó Ciprofloxacino (Potencia: 94.10 % t/c y humedad: 5.86 %) como control positivo, la primera dilución se realizó con agua estéril y la última dilución se realizó con caldo Mueller Hinton. Se inicia con una concentración de 6400 µg/mL siguiendo las normas de CLSI en donde indica realizar el ensayo con una concentración 100 veces mayor a la concentración de trabajo siendo para este caso 64 µg/mL es por ello que se

trabajó con 10 concentraciones con un rango que va desde 0,125 a 64 µg/mL⁵⁹(ver Tabla 4).

Tabla 4. Microdilución de Ciprofloxacino

Microdilución de Ciprofloxacino						
Paso	Concentración (µg/mL)	Fuente	Volumen(mL)	H ₂ O(mL)	Conc. intermedia(µg/mL)	Conc. Final a 1:50 (µg /mL)
1	6400	-	-	-	6400	128
2	6400	Paso 1	0.5	0.5	3200	64
3	3200	Paso 2	0.5	0.5	1600	32
4	1600	Paso 3	0.5	0.5	800	16
5	800	Paso 4	0.5	0.5	400	8
6	400	Paso 5	0.5	0.5	200	4
7	200	Paso 6	0.5	0.5	100	2
8	100	Paso 7	0.5	0.5	50	1
9	50	Paso 8	0.5	0.5	25	0.5
10	25	Paso 9	0.5	0.5	12.5	0.25

3.1.7.1.6. Preparación del control de crecimiento.

Las bacterias que se encontraban en crioviales se suspendieron en caldo TSB después de incubar 24 h a 37°C, se sembró en Placa Petri con Agar Mueller Hinton para obtener un mayor número células viables después de incubar a 37 °C durante 24 h para la determinación del CMI. El inóculo de trabajo se obtuvo suspendiendo las colonias viables en solución salina estéril 0.9 % hasta obtener una turbidez semejante al patrón (0.5 escala McFarland (1-1.5 x 10⁸ UFC/mL)). Al inóculo de

trabajo se le realizó una primera dilución 80 μ L de la suspensión en 2320 μ L de caldo Mueller Hinton y después se realizó una segunda dilución de 2000 μ L de la primera dilución en 8000 μ L de caldo Mueller Hinton por último se agrega 50 μ L de resazurina (20 mg/mL) a la segunda dilución⁵⁹.

3.1.7.1.7. Procedimiento de la prueba de microdilución colorimétrica.

El ensayo se llevó a cabo sobre microplacas de poliestireno de 96 pozos de fondo en U estériles llevándose a cabo todo el procedimiento dentro de una cabina de flujo laminar cuya distribución de las muestras se realizó en base al modelo de la microplaca (ver Tabla 5).

El procedimiento del método utilizado incluye al control de esterilidad (3.2.7.1.3) que se encuentra conformado por 200 μ L por pocillo y ubicado en la primera columna izquierda(1), el control de crecimiento (3.2.7.1.6) se encuentra conformado por 100 μ L del inóculo-resazurina más 100 μ L de caldo Mueller-Hinton por pocillo y ubicado en la última columna derecha (12), el control positivo (3.2.7.1.5) se encuentra conformado por 100 μ L de las diluciones de ciprofloxacino más 100 μ L de inóculo-resazurina por pocillo ubicado en las dos últimas filas (E-F) por último en los demás pocillos se encuentran las muestras en estudio conformada por 100 μ L las diluciones de los aceites esenciales (3.2.7.1.4) más 100 μ L inóculo-resazurina (3.2.7.1.6) luego se procede a incubar a 37 °C durante 24 h la microplaca con las muestras en condiciones aerobias⁵⁹.

Tabla 5. Diseño de la bandeja de microdilución colorimétrica.

			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A1	A	CE	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.3125		CC
A1	B	CE	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.3125		CC
A2	C	CE	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.3125		CC
A2	D	CE	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.3125		CC
CP	E	CE	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125		CC
CP	F	CE	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125		CC

Donde:

CE Control de esterilidad

CC Control de crecimiento

A1 Aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Osbeck.

A2 Aceite esencial de *Citrus japonica* Thumb.

CP Control positivo

3.1.7.1.8. Lectura e interpretación de los resultados.

Los resultados se obtuvieron visualmente ante un cambio de color de púrpura-azul a rosado-incoloro siendo el valor de la CMI la menor concentración del aceite esencial en la cual no hay viabilidad de bacterias presentes en los pocillos de la microplaca detectándose así el pocillo donde no se produjo el cambio de color rosado-incoloro reportándose la CMI como el valor promedio de tres datos obtenidos experimentalmente⁶⁰.

Para la interpretación de los resultados se tomaron en cuenta los parámetros de Paredes P et al.⁶¹. En nuestro estudio se consideró que los aceites esenciales tenían actividad antimicrobiana significativa cuando el CMI \leq 1000 ug/mL. La actividad antimicrobiana se clasifica como indica la Tabla 6.

Tabla 6. Clasificación de la actividad antimicrobiana respecto al CMI.

Actividad antimicrobiana	CMI
Débil actividad	500 a 1000 µg/mL
Moderada actividad	100 a < 500 µg/mL
Buena actividad	<100 µg/mL

3.1.7.1.9. Análisis estadístico de la actividad antimicrobiana.

Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva.

3.1.8. Evaluación de la actividad antibacteriana combinada de los aceites esenciales mediante el método de microtitulación en placa por tablero de ajedrez.

3.1.8.1. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria Fraccionada (ICF) por el método de microtitulación en placa por tablero de ajedrez.

3.1.8.1.1. Fundamento.

El fundamento es el mismo que el método de microdilución colorimétrica (3.1.7.1.1) pero para calcular la Concentración Mínima Inhibitoria Fraccionaria (ICF) primero se debe conocer el CMI individual de cada aceite esencial estudiado para poder determinar mediante cálculos matemáticos si existe sinergismo, sinergismo parcial, indiferencia o antagonismo.

3.1.8.1.2. Microorganismos de estudio.

Para el presente estudio se utilizaron los microorganismos para los cuales los aceites esenciales tuvieron efecto antibacteriano individual cuyas cepas fueron: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* cepa-clínica y *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica de la misma procedencia indicada en el punto (3.1.7.1.2).

3.1.8.1.3. Preparación del control de esterilidad.

Se encuentra conformada por lo mismo que el procedimiento de la prueba de microdilución colorimétrica (3.1.7.1.3)⁶².

3.1.8.1.4. Preparación de las muestras.

Para la preparación de las muestras se ha determinado previamente la CMI individual de cada aceite esencial para cada bacteria entonces para el sinergismo se va a trabajar con dos diluciones mayores y cinco diluciones menores a la CMI haciendo un total de 8 diluciones para las muestras⁶².

3.1.8.1.5. Preparación del inóculo.

Se encuentra conformada por lo mismo que el procedimiento de la prueba de microdilución colorimétrica (3.2.7.1.6)⁶².

3.1.8.1.6. Procedimiento de la prueba de microtitulación en placa por tablero de ajedrez.

El ensayo se llevó a cabo sobre microplacas de poliestireno de 96 pozos de fondo en U estériles llevándose a cabo todo el procedimiento dentro de una cabina de flujo laminar cuya distribución de muestras se realizó en base al modelo de la microplaca (ver Tabla 7).

El procedimiento del método utilizado incluye al control de esterilidad (3.1.8.1.3) que se encuentra conformado por 200 μ L por pocillo y ubicado en la columna izquierda (1), el control de crecimiento (3.1.8.1.5) se encuentra conformado por 100 μ L del inóculo más 100 μ L de caldo Mueller-Hinton y se ubica en la columna derecha (10) por último en los demás pocillos se encuentran las muestras en estudio conformada por 50 μ L del aceite esencial *Citrus sinensis* L. Osbeck. en el eje X (2-9) de mayor a menor concentración de izquierda a derecha y 50 μ L del aceite esencial de *Citrus japonica* Thumb. en el eje Y (A-H) de mayor a menor concentración de abajo hacia arriba es así como de esta manera se puede representar todas las posibles combinaciones de las diluciones de los dos antibacterianos conformando un total de 100 μ L de ambos aceites esenciales por pocillo más 100 μ L del inóculo luego se procede a incubar a 37 °C durante 24 h la microplaca con las muestras en condiciones aerobias⁶².

Tabla 7. Esquema de la microtitulación en placa por tablero de ajedrez.

		12345678910										
		A1 (CMI individual)										
			CE	C1N	C2N	C3N	C4N	C5N	C6N	C7N	C8N	CC
A2 (CMI individual)	A	C8M	CE	C1N/C8M	C2N/C8M	C3N/C8M	C4N/C8M	C5N/C8M	C6N/C8M	C7N/C8M	C8N/C8M	CC
	B	C7M	CE	C1N/C7M	C2N/C7M	C3N/C7M	C4N/C7M	C5N/C7M	C6N/C7M	C7N/C7M	C8N/C7M	CC
	C	C6M	CE	C1N/C6M	C2N/C6M	C3N/C6M	C4N/C6M	C5N/C6M	C6N/C6M	C7N/C6M	C8N/C6M	CC
	D	C5M	CE	C1N/C5M	C2N/C5M	C3N/C5M	C4N/C5M	C5N/C5M	C6N/C5M	C7N/C5M	C8N/C5M	CC
	E	C4M	CE	C1N/C4M	C2N/C4M	C3N/C4M	C4N/C4M	C5N/C4M	C6N/C4M	C7N/C4M	C8N/C4M	CC
	F	C3M	CE	C1N/C3M	C2N/C3M	C3N/C3M	C4N/C3M	C5N/C3M	C6N/C3M	C7N/C3M	C8N/C3M	CC
	G	C2M	CE	C1N/C2M	C2N/C2M	C3N/C2M	C4N/C2M	C5N/C2M	C6N/C2M	C7N/C2M	C8N/C2M	CC
	H	C1M	CE	C1N/C1M	C2N/C1M	C3N/C1M	C4N/C1M	C5N/C1M	C6N/C1M	C7N/C1M	C8N/C1M	CC

Donde:

CE Control de esterilidad

CC Control de crecimiento

A1 Aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Osbeck.

A2 Aceite esencial de *Citrus japonica* Thumb.

Comentario: Las concentraciones de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck. (C1N-C8N) y *Citrus japonica* Thumb. (C1M-C8M) va a depender del CMI individual para microorganismo en estudio ya que se está trabajando con dos diluciones mayores y 5 diluciones menores del CMI individual.

3.1.8.1.7. Lectura e interpretación de los resultados.

Cálculo de la Concentración Mínima Inhibitoria Fraccionaria.

Para evaluar los efectos sinérgicos de los aceites esenciales⁴³ se calculó el Índice de Concentración Fraccionaria (ICF)⁶²:

$$\text{ICF del agente A1} = \frac{\text{CMI del agente A1 en combinación con A2}}{\text{CMI del agente A1 individual}}$$

$$\text{ICF del agente A2} = \frac{\text{CMI del agente A2 en combinación con A1}}{\text{CMI del agente A2 individual}}$$

$$\sum \text{ICF} = \text{ICF del agente A1} + \text{ICF del agente A2}$$

Donde A1 y A2 son los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” respectivamente.

Interpretación del Índice de Concentración Fraccionaria Inhibitoria (ICF)

Los efectos de la actividad combinada pueden ser según Buldain D et al.⁴²:

- Sinergismo: La actividad combinada de los dos aceites esenciales es mayor que la actividad individual ($X \leq 0.5$).
- Sinergismo parcial: Su designación es controversial ($0.5 < X < 1$).
- Indiferencia o adición: La actividad de los aceites esenciales no difiere de los efectos solos ($1 \leq X < 2$).
- Antagonismo: La actividad de los aceites esenciales es menor cuando se aplican juntos que cuando son aplicados por separado ($X \geq 2$).

Para el cálculo del CMI se trabajará con las intersecciones de los pocillos donde hubo cambio de color, como se muestra en la Figura 12.

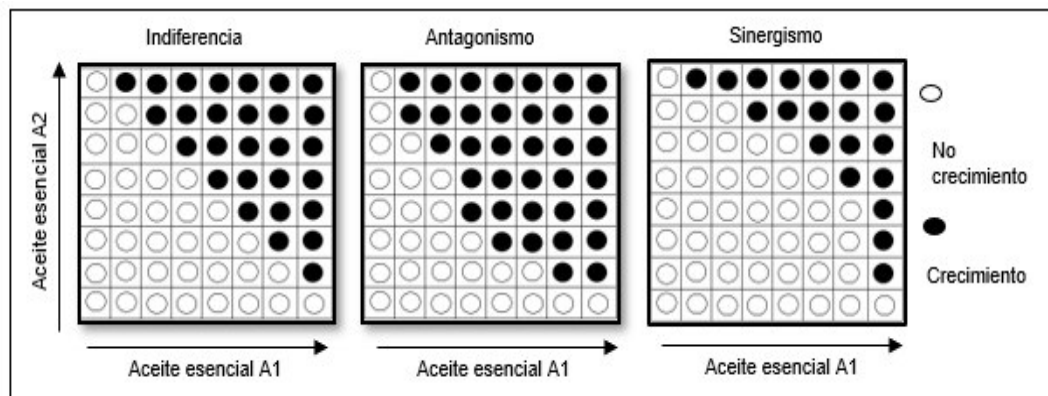


Figura 12. Prototipo de placas para determinar el sinergismo antibacteriano adecuado a nuestro estudio tomando como base el método de tablero de ajedrez⁶².

3.1.8.1.8. Análisis estadístico de la actividad antimicrobiana combinada.

Los resultados se analizaron por triplicado mediante estadística descriptiva

3.2. Flujograma de la investigación

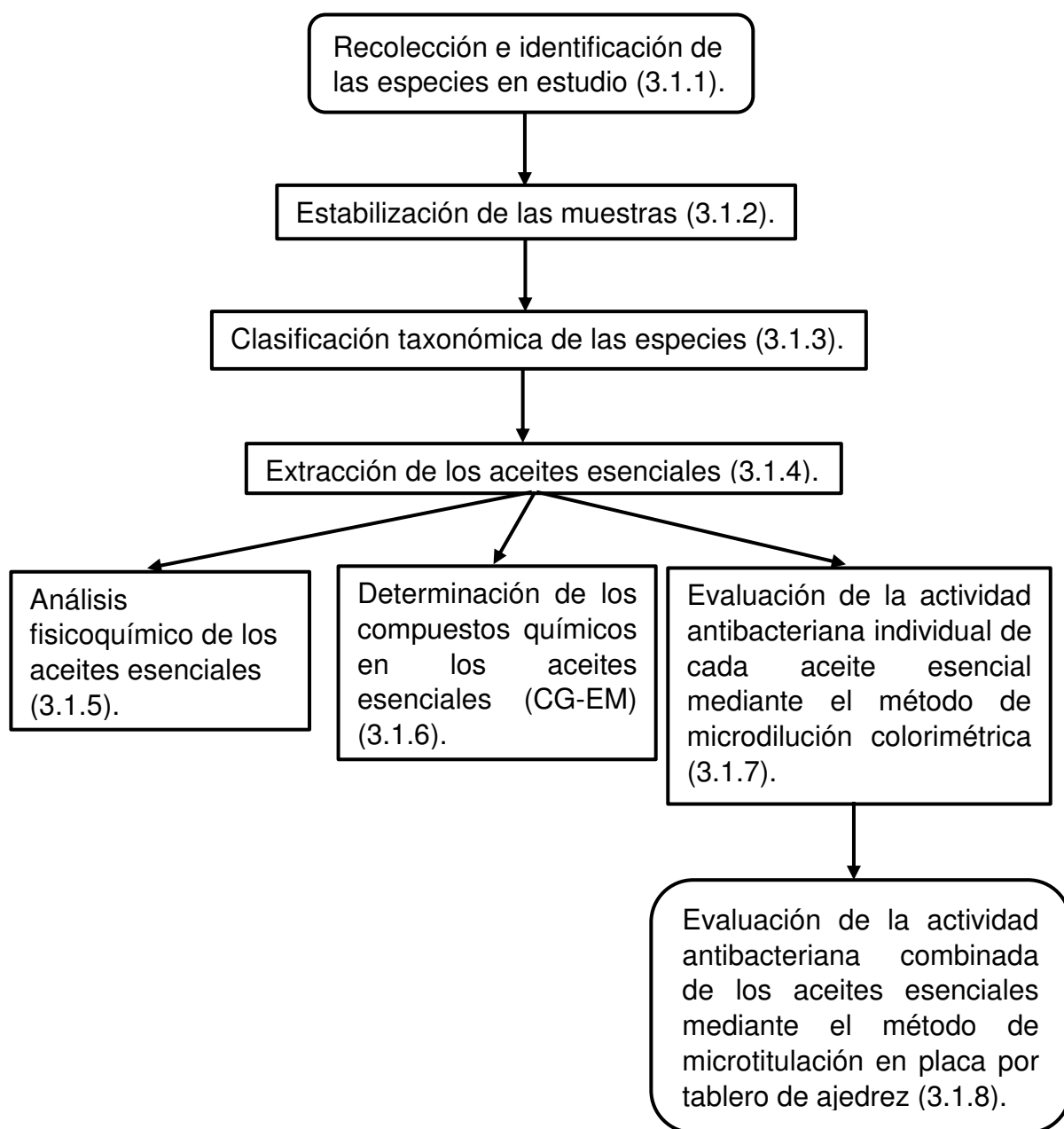


Figura 13. Diagrama de flujo de la parte experimental de la determinación de la composición química, actividad antibacteriana individual y sinérgica *in vitro* de dos aceites esenciales del género *Citrus*.

IV. RESULTADOS

4.1. Análisis fisicoquímico de los aceites esenciales

Tabla 8. Propiedades y parámetros fisicoquímicos de los aceites esenciales en estudio.

Propiedades y parámetros fisicoquímicos	<i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck	<i>Citrus japonica</i> Thumb.
Aspecto	Líquido oleoso traslúcido	Líquido oleoso traslúcido
Color	Amarillo pálido	Amarillo pálido
Olor	Sui géneris	Sui géneris
Sabor	Sui géneris	Sui géneris
Textura	Oleosa	Oleosa
Densidad(20°C)	0.838 g/mL	0.831 g/mL
Rendimiento(%RAE)	0.363%	0.123%

4.2. Determinación de los compuestos químicos de los aceites esenciales por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/EM).

En el análisis por CG/EM se identificaron los componentes volátiles del aceite esencial los cuales se muestran en las figuras 14-17; y en las tablas 9-12.

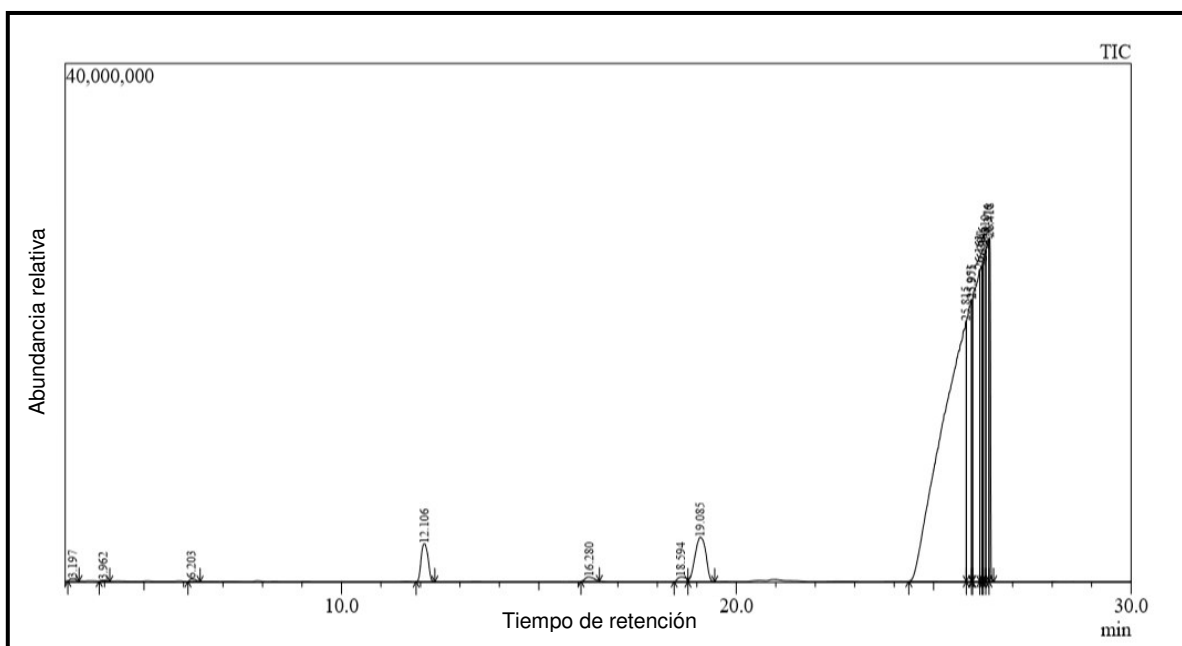


Figura 14. Perfil cromatográfico de los compuestos volátiles del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Osbect “naranja valencia” de 3 a 30 minutos. La identificación de cada pico se da en la Tabla 9.

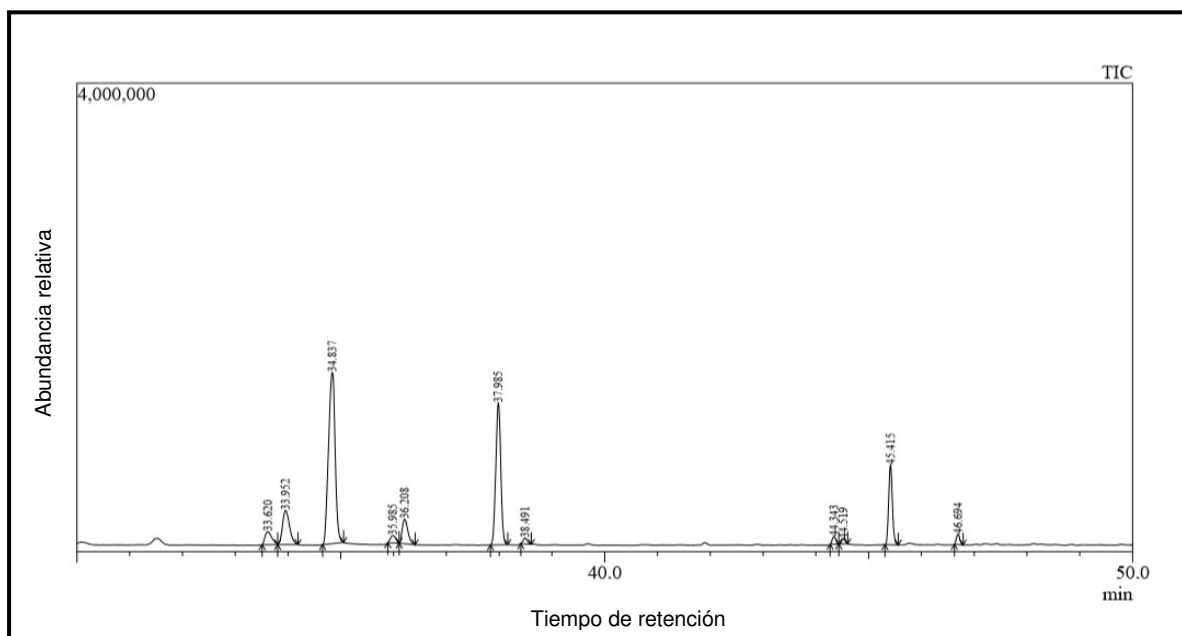


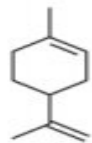
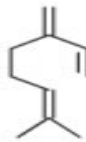

Figura 15. Perfil cromatográfico de los compuestos volátiles del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Osbect “naranja valencia” de 30 a 50 minutos. La identificación de cada pico se da en la Tabla 9.

Tabla 9. Identificación de los compuestos químicos del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” de 3 a 50 minutos.

Peak#	R. Time	Area	Area%	Height	Height%	Name
1	3.197	1972944	0.11	188968	0.08	1-Penten-3-ol, 2-methyl-
2	3.962	748190	0.04	70895	0.03	2-Methoxy-2-methylbut-3-ene
3	6.203	1943633	0.10	188106	0.08	Furfural
4	12.106	35264581	1.88	2920225	1.29	.alpha.-Pinene
5	16.280	4894715	0.26	317081	0.14	.beta.-Phellandrene
6	18.594	5288776	0.28	355004	0.16	5-Hepten-2-one, 6-methyl-
7	19.085	65185114	3.48	3433252	1.51	.beta.-Myrcene
8	25.815	860009894	45.94	20060607	8.84	D-Limonene
9	25.951	169549583	9.06	21743299	9.59	Limonene
10	25.975	32594548	1.74	21763142	9.60	Limonene
11	26.161	254518458	13.59	24058647	10.61	Limonene
12	26.207	79846875	4.26	24323469	10.72	1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl-
13	26.246	44175497	2.36	24655997	10.87	D-Limonene
14	26.310	97763440	5.22	25576162	11.28	Limonene
15	26.376	124623458	6.66	26377483	11.63	Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-
16	26.418	62893828	3.36	26487739	11.68	D-Limonene
17	33.620	993250	0.05	112613	0.05	3-Cyclohexene-1-acetaldehyde, .alpha.,4-dimethyl-
18	33.952	2689684	0.14	292504	0.13	trans-Linalool oxide (furanoid)
19	34.837	12786623	0.68	1464462	0.65	1-Octanol
20	35.985	435998	0.02	63678	0.03	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-
21	36.208	1543762	0.08	209864	0.09	trans-Linalool oxide (furanoid)
22	37.985	7936933	0.42	1213192	0.53	Linalool
23	38.491	284781	0.02	50897	0.02	Nonanal
24	44.343	317843	0.02	67862	0.03	Terpinen-4-ol
25	44.519	188628	0.01	43353	0.02	1-Nonanol
26	45.415	3353583	0.18	683570	0.30	.alpha.-Terpineol
27	46.694	384967	0.02	89134	0.04	Decanal
		1872189586	100.00	226811205	100.00	

Leyenda: R Time: Tiempo de Retención: Tiempo característico de cada compuesto químico para atravesar el sistema en las condiciones especificadas en el Informe Técnico.

Tabla 10. Elucidación de las estructuras de los compuestos volátiles del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” por el método de CG/EM.

Nº	Nombre	Tipo de compuesto químico	Estructura química	%
1	D-Limoneno	Terpeno		92.19%
2	β -Mirceno	Terpeno		3.48%
3	α -Pineno	Terpeno		1.88 %

En la **Tabla 10** se están considerando los componentes volátiles mayoritarios cuyo porcentaje relativo fue calculado de las áreas del cromatograma de dicha muestra siendo estos componentes D-Limoneno (92.19%), β -Mirceno (3.48%) y α -Pineno (1.88%).

El compuesto químico más abundante para *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” es el terpeno destacando entre ellos el D-Limoneno con 92.19 % que es característico del género *Citrus*.

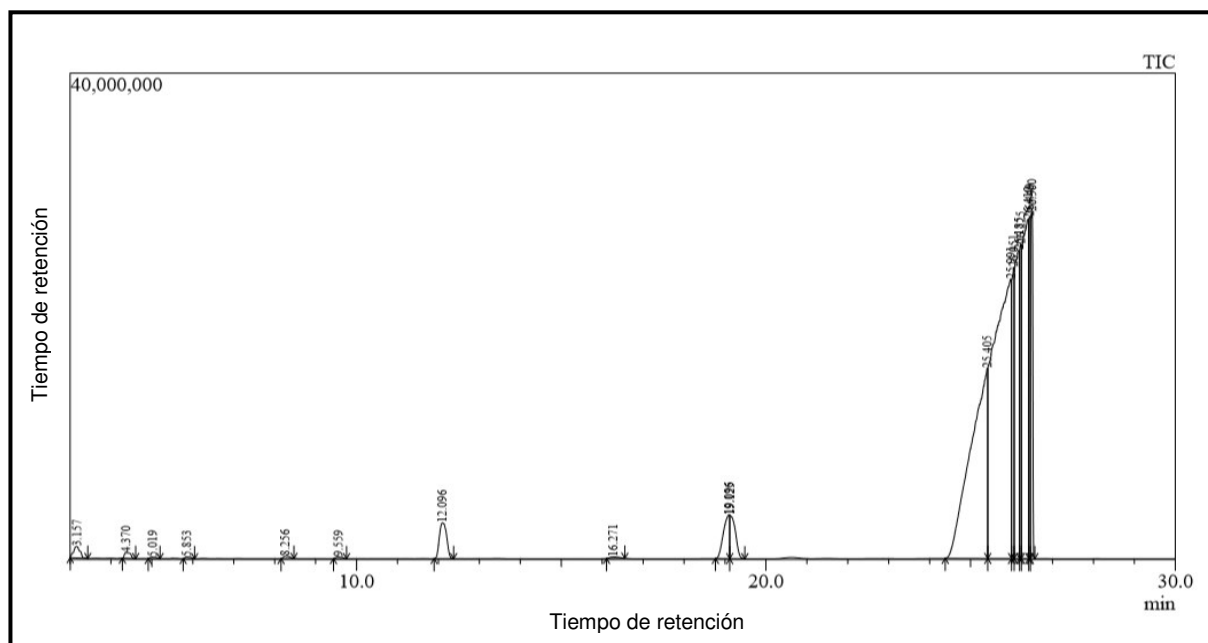


Figura 16. Perfil cromatográfico de los compuestos volátiles del aceite esencial de *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” de 3 a 30 minutos. La identificación de cada pico se da en la Tabla 11.

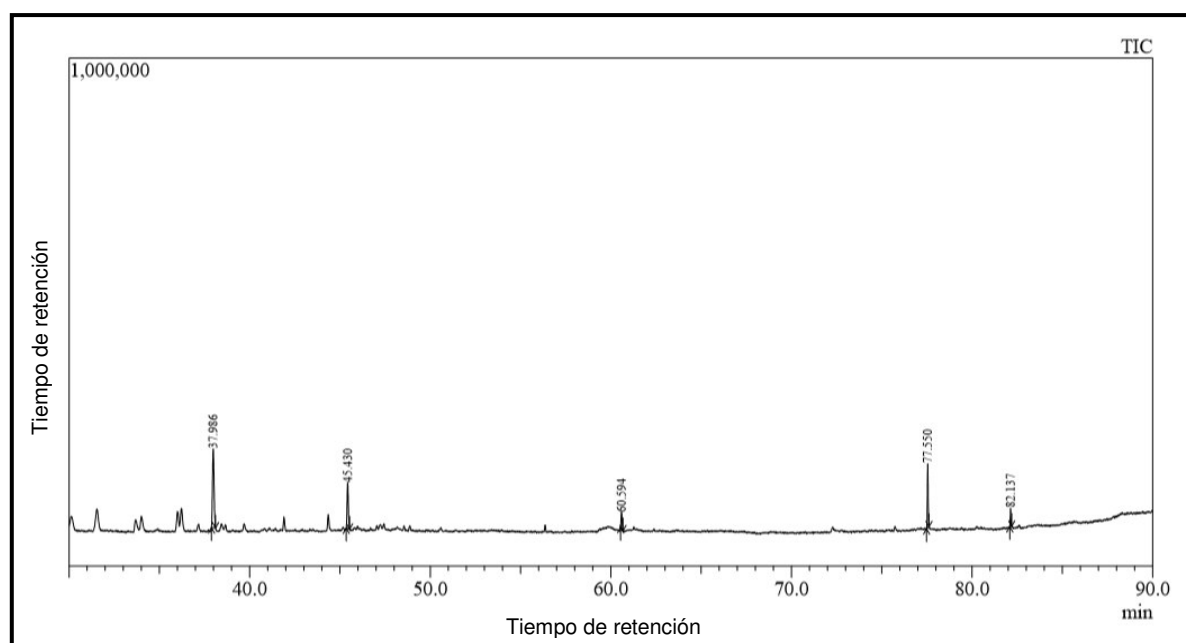


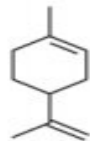
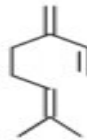

Figura 17. Perfil cromatográfico de los compuestos volátiles del aceite esencial de *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” de 30 a 90 minutos. La identificación de cada pico se da en la Tabla 11.

Tabla 11. Identificación de los compuestos químicos del aceite esencial de *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” de 3 a 90 minutos.

Peak#	R.Time	Area	Area%	Height	Height%	Name
1	3.157	10278908	0.49	937844	0.44	Hexanoic acid, 2-propenyl ester
2	4.370	4750874	0.23	454274	0.22	Isobutyl acetate
3	5.019	1188664	0.06	115782	0.05	Hexane, 2,4-dimethyl-
4	5.853	1338734	0.06	136473	0.06	2(3H)-Furanone, 5-butyldihydro-4-methyl-, cis-
5	8.256	2025754	0.10	193577	0.09	1-Butanol, 3-methyl-, acetate
6	9.559	1534302	0.07	141021	0.07	Nonane
7	12.096	36237944	1.74	2955475	1.40	.alpha.-Pinene
8	16.271	1942798	0.09	122335	0.06	.beta.-Phellandrene
9	19.096	37233626	1.79	3610510	1.71	.beta.-Myrcene
10	19.125	33586597	1.61	3572295	1.69	.beta.-Myrcene
11	25.405	452945591	21.75	15649566	7.42	D-Limonene
12	25.991	681728333	32.73	22981874	10.89	D-Limonene
13	26.051	91457025	4.39	23948549	11.35	D-Limonene
14	26.185	192839261	9.26	25349473	12.01	.beta.-Phellandrene
15	26.225	69294937	3.33	25853789	12.25	D-Limonene
16	26.410	290642173	13.95	27921550	13.23	Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-
17	26.449	67284468	3.23	28125255	13.33	D-Limonene
18	26.500	104527877	5.02	28532091	13.52	D-Limonene
19	37.986	958857	0.05	155672	0.07	Linalool
20	45.430	437572	0.02	90248	0.04	.alpha.-Terpineol
21	60.594	123279	0.01	31940	0.02	Germacrene D
22	77.550	393069	0.02	126439	0.06	Dimethyl palmitamine
23	82.137	96836	0.00	36158	0.02	Dimantine
		2082847479	100.00	211042190	100.00	

Leyenda: R Time: Tiempo de Retención: Tiempo característico de cada compuesto químico para atravesar el sistema en las condiciones especificadas en el Informe Técnico.

Tabla 12. Elucidación de las estructuras de los compuestos volátiles del aceite esencial de *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” por el método de CG/EM.

N°	Nombre	Tipo de compuesto químico	Estructura química	%
1	D-Limonene	Terpeno		93.66%
2	β -Mirceno	Terpeno		3.40%
3	α -Pineno	Terpeno		1.74 %

En la **Tabla 12** se están considerando los componentes volátiles mayoritarios cuyo porcentaje relativo fue calculado de las áreas del cromatograma de dicha muestra siendo estos componentes D-Limonene (93.66%), β -Mirceno (3.40%) y α -Pineno (1.74%).

El compuesto químico más abundante para *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” es el terpeno destacando entre ellos el D-Limoneno con 93.66 % que es característico del género *Citrus*.

4.3. Actividad antibacteriana.

4.3.1. CMI individual por el método de microdilución colorimétrica.

Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 13.

Tabla 13. Valor de la Concentración Mínima Inhibitoria individual de los dos aceites esenciales sobre bacterias Gram (+) y bacterias Gram (-).

Microorganismos		Aceites esenciales	
		<i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck	<i>Citrus japonica</i> Thumb.
		Concentración Mínima Inhibitoria individual (µL/mL)	
Bacterias Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	40	10
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	10	5
	<i>Staphylococcus aureus</i> cepa-clínica	40	10
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> cepa-clínica	2.5	1.25
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-
	<i>Escherichia coli</i> cepa-clínica 1	-	-
Bacterias Gram (-)	<i>Escherichia coli</i> cepa-clínica 2	-	-

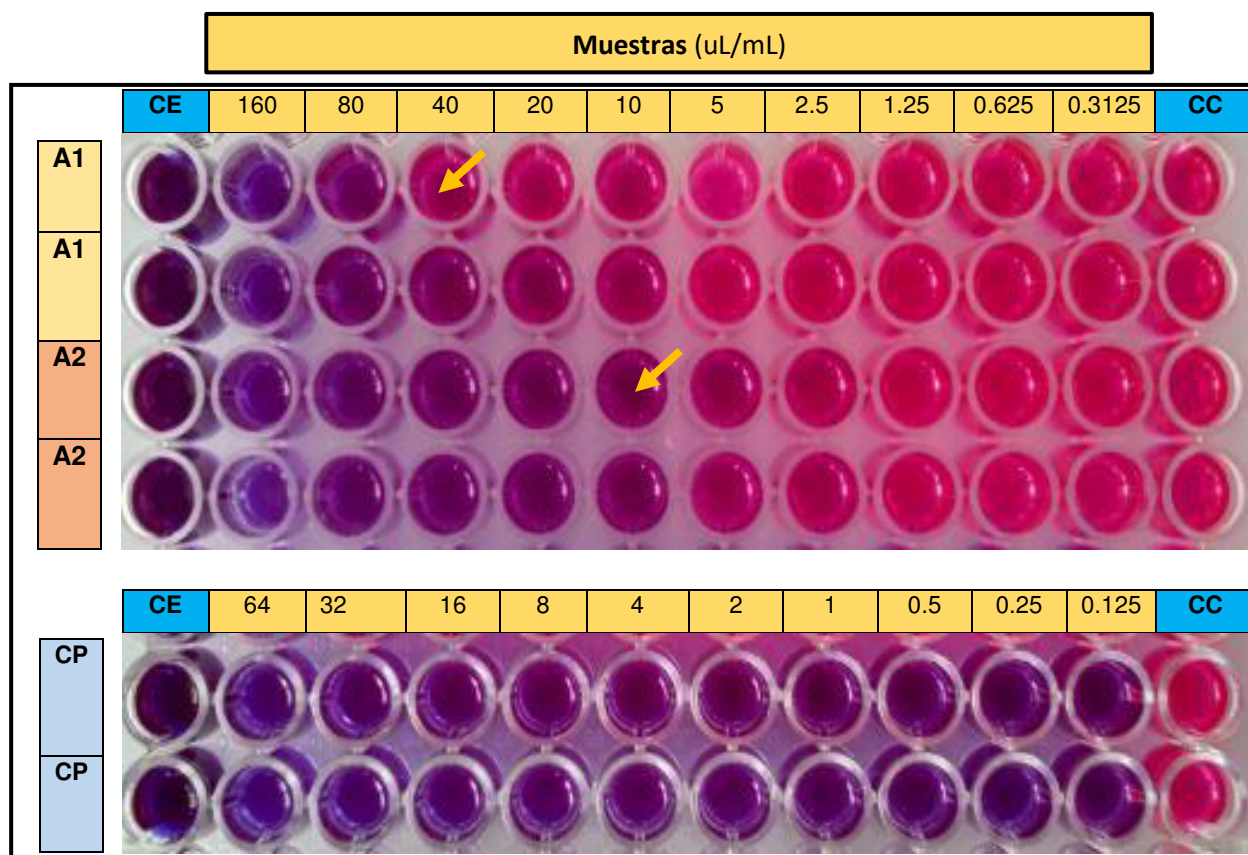


Figura 18. Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género *Citrus* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Leyenda: CE (Control de esterilidad), CC (Control de crecimiento), CP (Control positivo)

A1: *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia".

A2: *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana".

Comentario: El ensayo se realizó por triplicado en donde no se mostraron diferencias en los resultados. Las flechas amarillas indican la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a la cual hay ausencia de microorganismo, siendo el CMI para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 de 40 $\mu\text{L/mL}$ y 10 $\mu\text{L/mL}$ para *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia" y *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana" respectivamente.

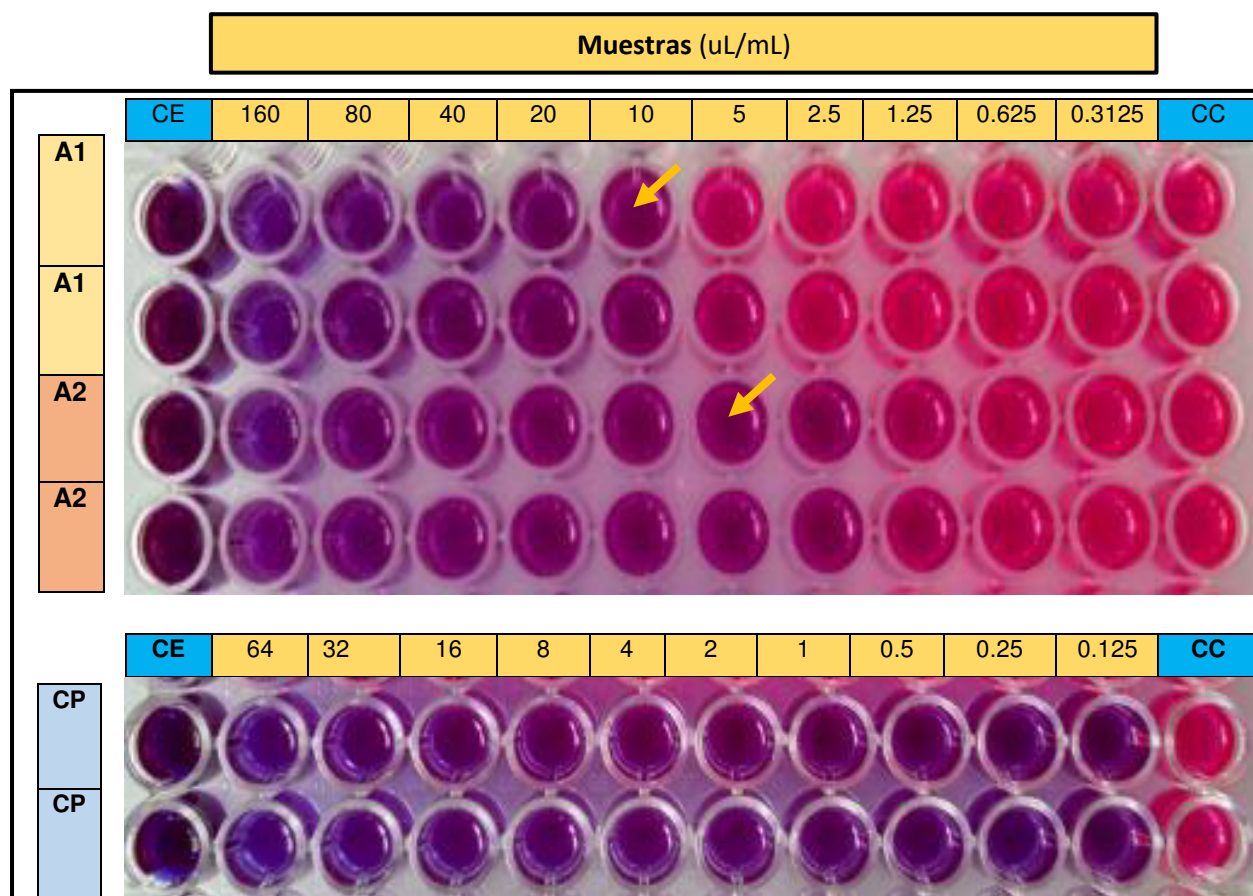


Figura 19. Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género *Citrus* frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Leyenda: CE (Control de esterilidad), CC (Control de crecimiento), CP (Control positivo)

A1: *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia".

A2: *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana".

Comentario: El ensayo se realizó por triplicado en donde no se mostró diferencias en los resultados. Las flechas amarillas indican la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a la cual hay ausencia de microorganismo, siendo el CMI para *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 de 10 $\mu\text{L/mL}$ y 5 $\mu\text{L/mL}$ para *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia" y *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana" respectivamente.

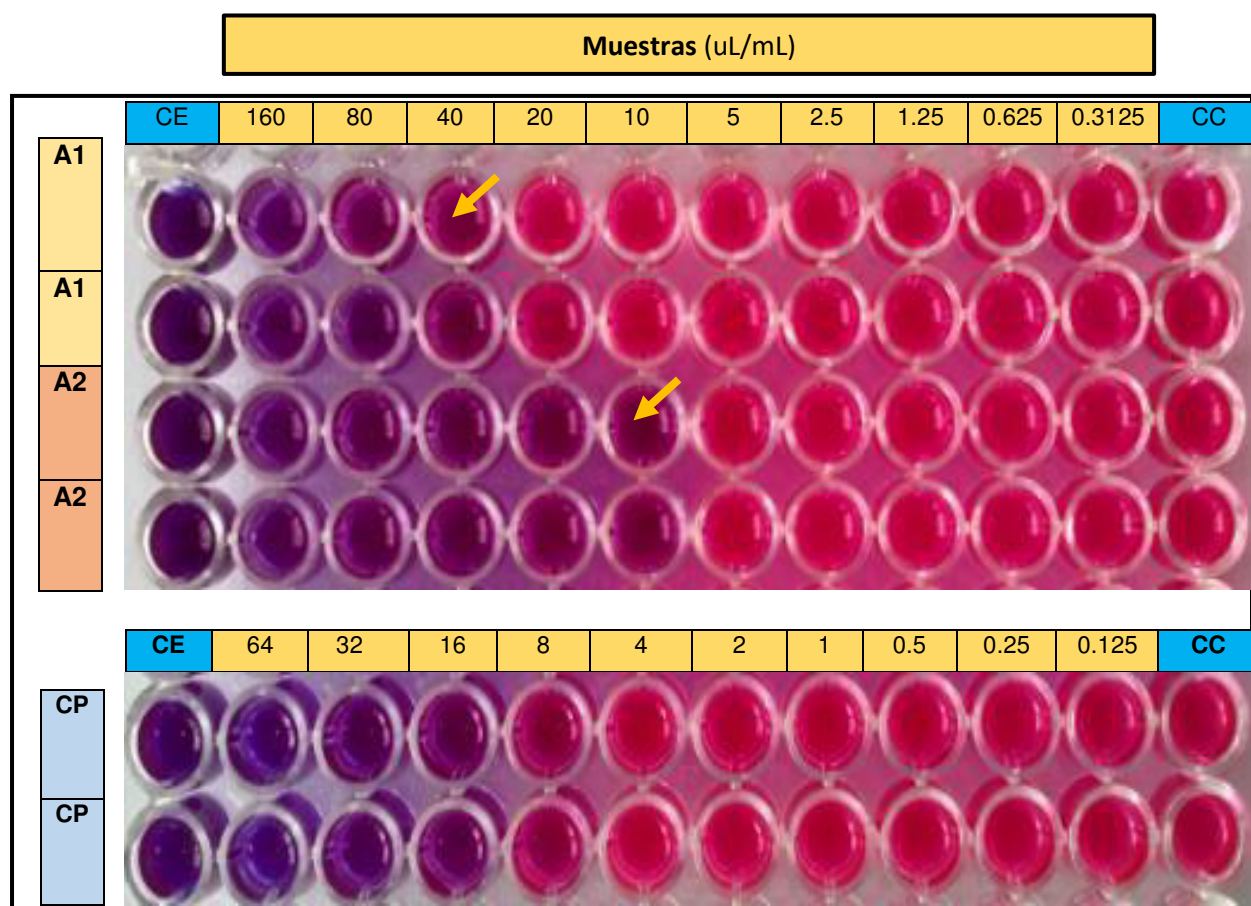


Figura 20. Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género *Citrus* frente a *Staphylococcus aureus* cepa-clínica.

Leyenda: CE (Control de esterilidad), CC (Control de crecimiento), CP (Control positivo)

A1: *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia”.

A2: *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana”.

Comentario: El ensayo se realizó por triplicado en donde no se mostró diferencias en los resultados. Las flechas amarillas indican la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a la cual hay ausencia de microorganismo, siendo el CMI para *Staphylococcus aureus* cepa-clínica de 40 $\mu\text{L/mL}$ y 10 $\mu\text{L/mL}$ para *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” respectivamente.

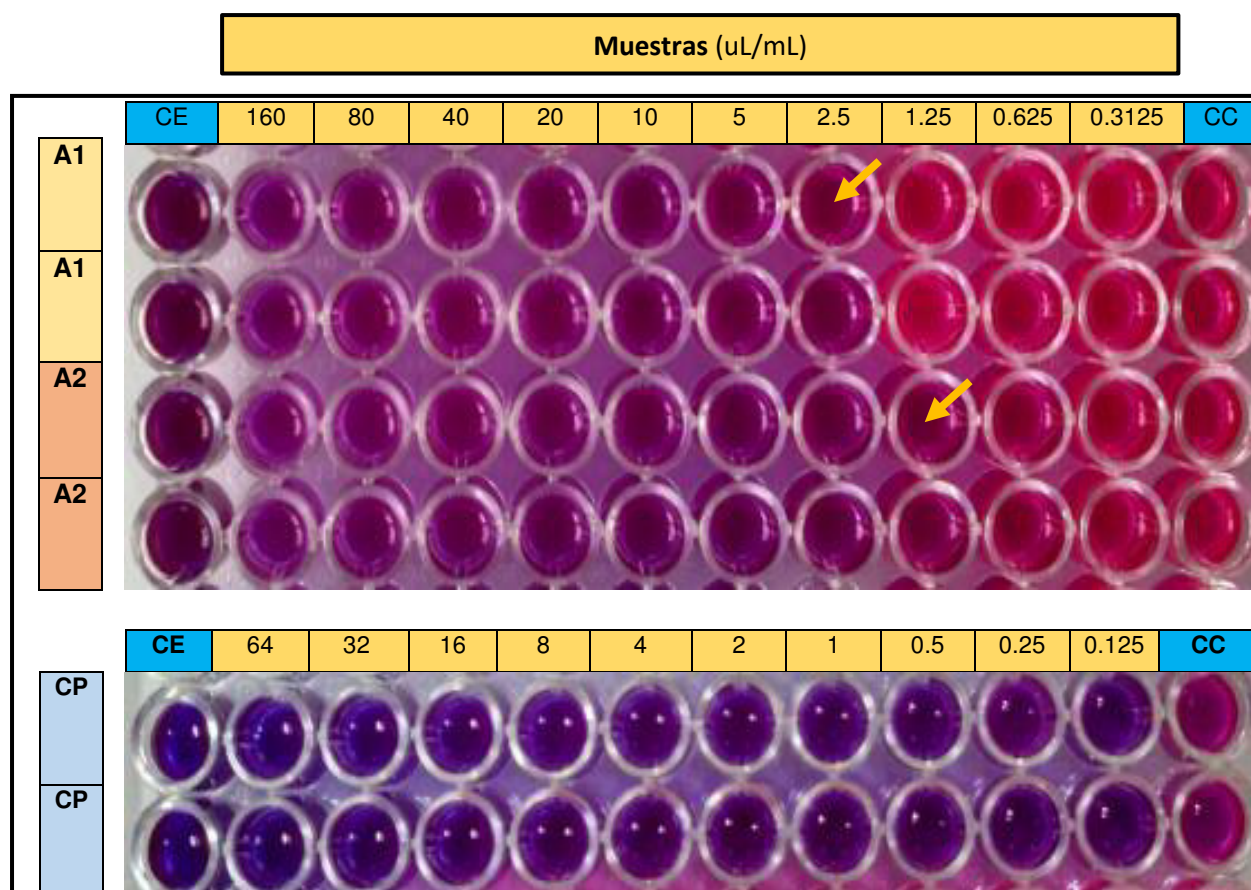


Figura 21. Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género *Citrus* frente a *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica.

Leyenda: CE (Control de esterilidad), CC (Control de crecimiento), CP (Control positivo)

A1: *Citrus sinensis* L. Osbect “naranja valencia”.

A2: *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana”.

Comentario: El ensayo se realizó por triplicado en donde no se mostró diferencias en los resultados. Las flechas amarillas indican la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a la cual hay ausencia de microorganismo, siendo el CMI para *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica de 2.5 $\mu\text{L/mL}$ y 1.25 $\mu\text{L/mL}$ para *Citrus sinensis* L. Osbect “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” respectivamente.

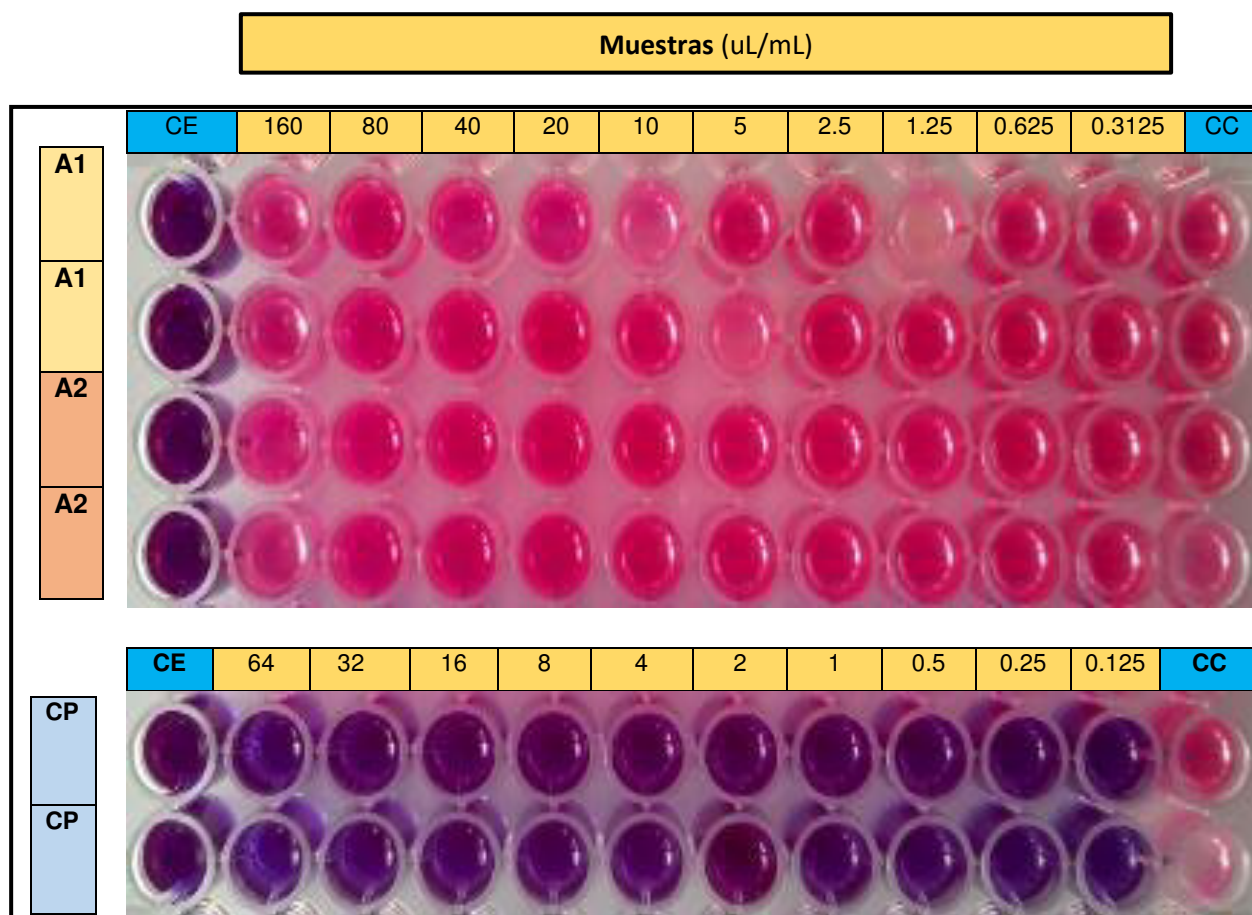


Figura 22. Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género *Citrus* frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Leyenda: CE (Control de esterilidad), CC (Control de crecimiento), CP (Control positivo)

A1: *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia".

A2: *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana".

Comentario: No se evidenció actividad antibacteriana de las especies de *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia" y *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana" frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

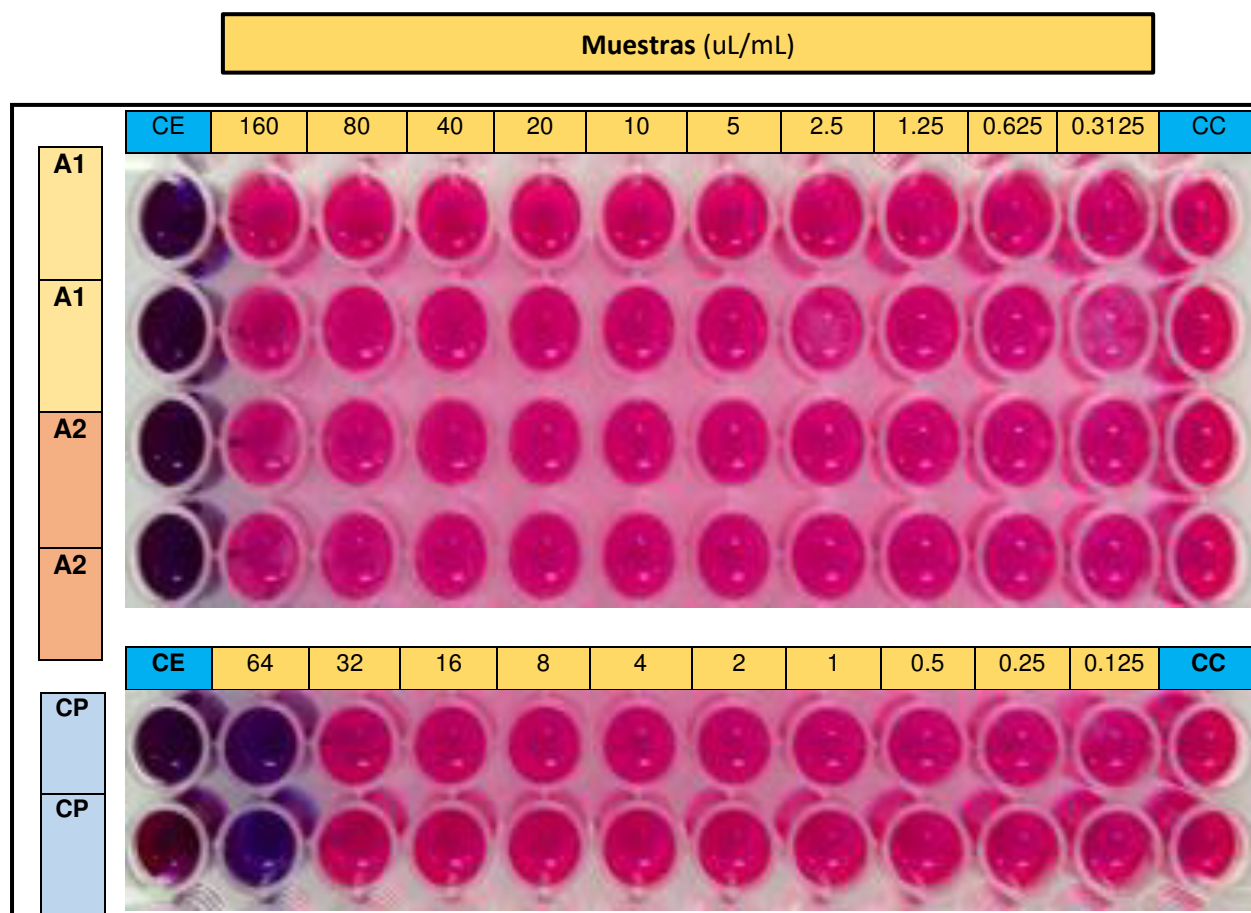


Figura 23. Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género *Citrus* frente a *Escherichia coli* cepa-clínica 1.

Leyenda: CE (Control de esterilidad), CC (Control de crecimiento), CP (Control positivo)

A1: *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia".

A2: *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana".

Comentario: No se evidencio actividad antibacteriana de las especies de *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia" y *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana". frente a *Escherichia coli* cepa-clínica 1.

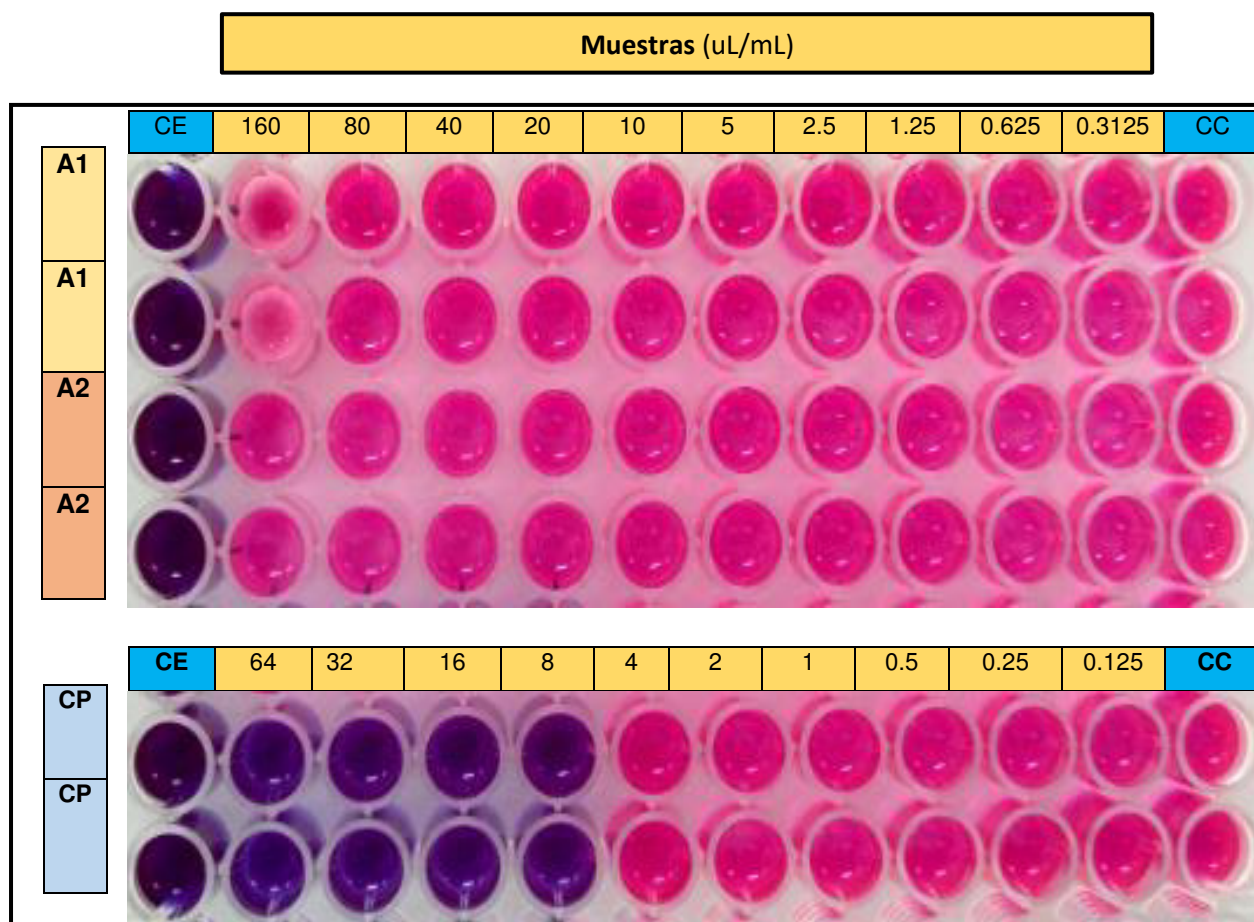


Figura 24. Actividad antibacteriana individual de los dos aceites esenciales del género *Citrus* frente a *Escherichia coli* cepa-clínica 2.

Leyenda: CE (Control de esterilidad), CC (Control de crecimiento), CP (Control positivo)

A1: *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia".

A2: *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana".

Comentario: No se evidenció actividad antibacteriana de las especies de *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia" y *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana" frente a *Escherichia coli* cepa-clínica 2.

4.3.2. Determinación de la actividad antibacteriana sinérgica mediante el método microtitulación en tablero de ajedrez.

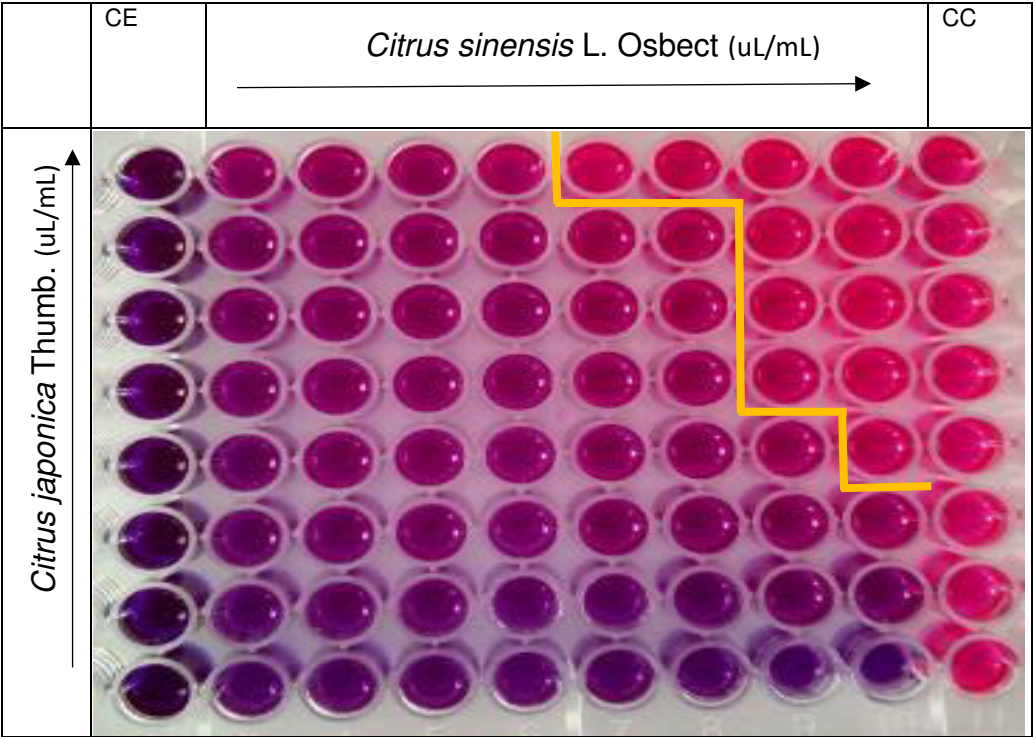


Figura 25. Actividad antibacteriana combinada de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck y *Citrus japonica* Thumb. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Comentario: La actividad antibacteriana combinada de las especies de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” mostro acción frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a las concentraciones que están en los pocillos por debajo de la línea amarilla determinándose con dichas concentraciones el índice de concentración fraccionaria (ICF) ver Tabla 14.

Tabla 14. Concentraciones de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

CE	Concentración (uL/mL)	<i>Citrus sinensis</i> L.Osbeck								CC
		160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE										CC
CE	0.312	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	0.625	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	1.25	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	2.5	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	5	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	10	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	20	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	40	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC

CMI *Citrus sinensis* L. Osbeck: 40 µL/mL

CMI *Citrus japonica* Thumb: 10 µL/mL

CMI (20/0.312) \sum ICF:20/40 + 0.312/10=0.531 (sinergismo parcial)

CMI (10/0.625) \sum ICF:10/40 + 0.625/10=0.313 (sinergismo)

CMI (5/0.625) \sum ICF:5/40 + 0.625/10=0.188 (sinergismo)

CMI (5/1.25) \sum ICF:5/40 + 1.25/10=0.25 (sinergismo)

CMI (5/2.5) \sum ICF:5/40 + 2.5/10=0.375 (sinergismo)

CMI (2.5/5) \sum ICF:2.5/40 + 5/10=0.563 (sinergismo parcial)

CMI (1.25/10) \sum ICF:1.25/40 + 10/10=1.031 (indiferencia)

Tabla 15. Concentraciones de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

CE	Concentración (uL/mL)		<i>Citrus sinensis</i> L.Osbeck								CC
			40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	CC
CE		0.156	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	CC
CE			0.156	0.156	0.156	0.156	0.156	0.156	0.156	0.156	CC
CE		0.312	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	CC
CE			0.312	0.312	0.312	0.312	0.312	0.312	0.312	0.312	CC
CE		0.625	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	CC
CE			0.625	0.625	0.625	0.625	0.625	0.625	0.625	0.625	CC
CE		1.25	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	CC
CE			1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	CC
CE		2.5	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	CC
CE			2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	CC
CE		5	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	CC
CE			5	5	5	5	5	5	5	5	CC
CE		10	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	CC
CE			10	10	10	10	10	10	10	10	CC
CE		20	40	20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	CC
CE			20	20	20	20	20	20	20	20	CC

CMI *Citrus sinensis* L. Osbeck: 10 µL/mL

CMI *Citrus japonica* Thumb: 5 µL/mL

CMI (10/0.156) \sum ICF: $10/10 + 0.156/5 = 1.031$ (indiferencia)

CMI (5/0.312) \sum ICF: $5/10 + 0.312/5 = 0.562$ (sinergismo parcial)

CMI (2.5/0.312) \sum ICF: $2.5/10 + 0.312/5 = 0.312$ (sinergismo)

CMI (1.25/0.625) \sum ICF: $2.5/10 + 0.625/5 = 0.375$ (sinergismo)

CMI (0.625/1.25) \sum ICF: $0.625/10 + 1.25/5 = 0.313$ (sinergismo)

CMI (0.625/2.5) \sum ICF: $0.625/10 + 2.5/5 = 0.5625$ (sinergismo parcial)

CMI (0.312/5) \sum ICF: $0.312/10 + 5/5 = 1.031$ (indiferencia)

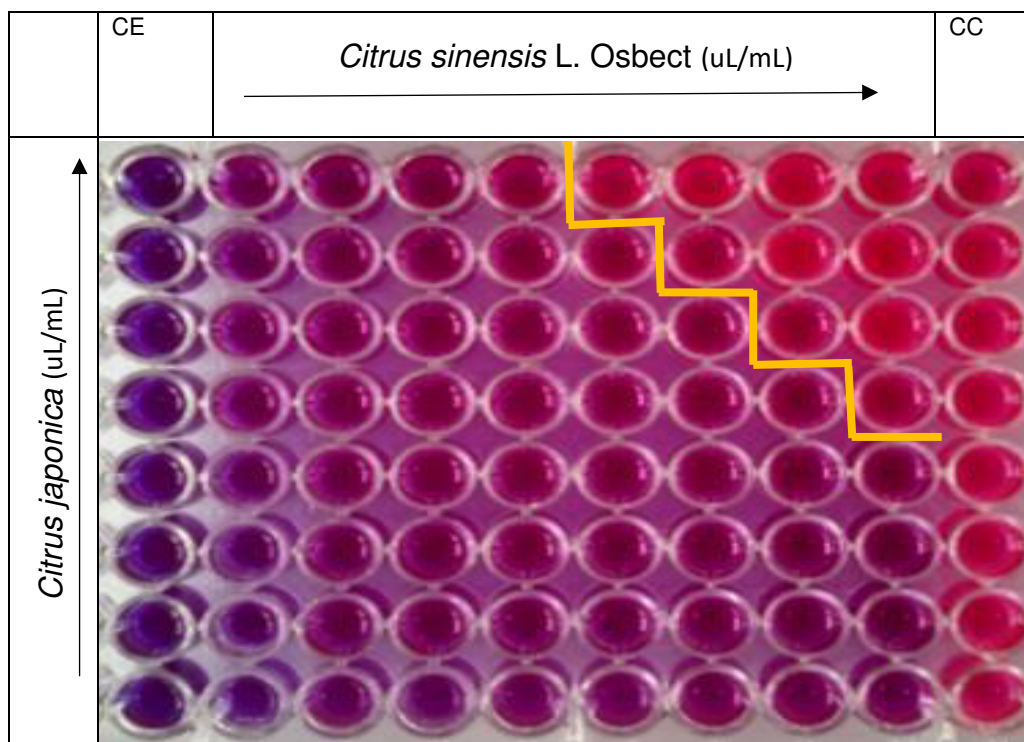


Figura 27. Actividad antibacteriana combinada de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck y *Citrus japonica* Thumb. frente a *Staphylococcus aureus* cepa-clínica.

Comentario: La actividad antibacteriana combina de las especies de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” mostro acción frente a *Staphylococcus aureus* cepa-clínica a las concentraciones que están en los pocillos por debajo de la línea amarilla determinándose con dichas concentraciones el índice de concentración fraccionaria (ICF) ver Tabla 16.

Tabla 16. Concentraciones de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” frente a *Staphylococcus aureus* cepa-clínica.

CE	Concentración (uL/mL)	<i>Citrus sinensis</i> L.Osbeck								CC
		160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	
CE		160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	0.312	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	0.625	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	1.25	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	2.5	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	5	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	10	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	20	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC
CE	40	160	80	40	20	10	5	2.5	1.25	CC

CMI *Citrus sinensis* L. Osbeck: 40 µL/mL

CMI *Citrus japonica* Thumb: 10 µL/mL

CMI (20/0.312) \sum ICF: $20/40 + 0.312/10=0.531$ (sinergismo parcial)

CMI (10/0.625) \sum ICF: $10/40 + 0.625/10=0.313$ (sinergismo)

CMI (5/1.25) \sum ICF: $5/40 + 1.25/10=0.25$ (sinergismo)

CMI (2.5/2.5) \sum ICF: $2.5/40 + 2.5/10=0.313$ (sinergismo)

CMI (1.25/5) \sum ICF: $1.25/40 + 5/10=0.531$ (sinergismo parcial)

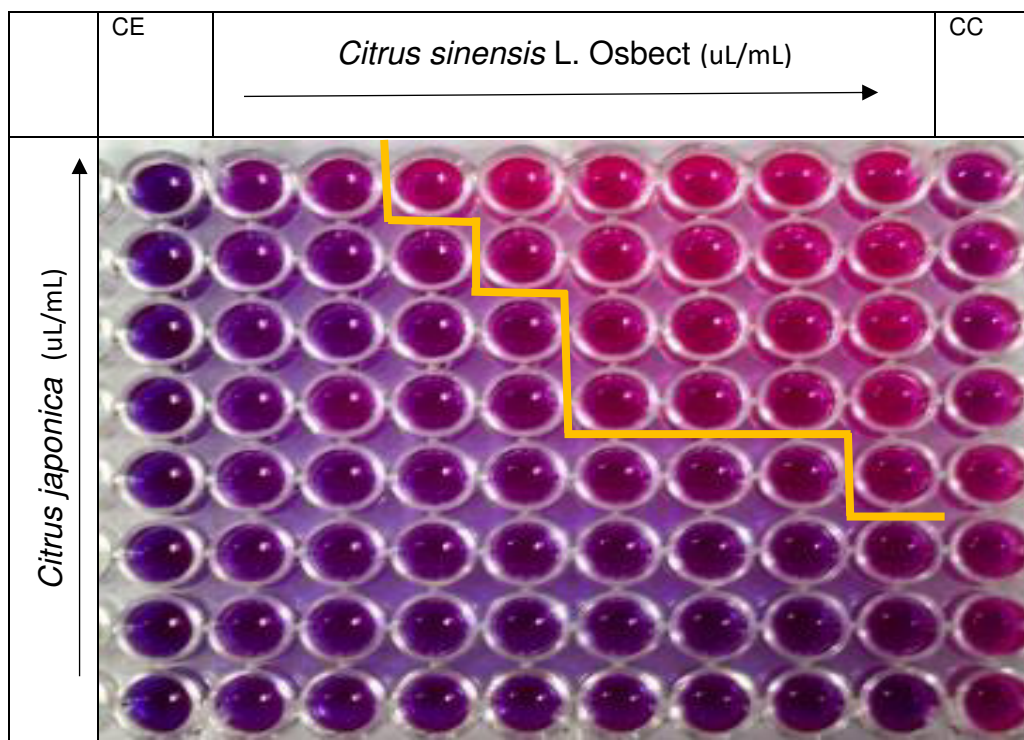


Figura 28. Actividad antibacteriana combinada de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck y *Citrus japonica* Thumb. frente a *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica.

Comentario: La actividad antibacteriana combina de las especies de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” mostro acción frente a *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica a las concentraciones que están en los pocillos por debajo de la línea amarilla determinándose con dichas concentraciones el índice de concentración fraccionaria (ICF) ver Tabla 17.

Tabla 17. Concentraciones de los aceites esenciales de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” frente a *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica.

CE	Concentración (uL/mL)		<i>Citrus sinensis</i> L.Osbeck								CC
			10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	CC
CE	<i>Citrus japonica</i> Thumb.	0.039	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	CC
CE			0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	CC
CE		0.078	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	CC
CE			0.078	0.078	0.078	0.078	0.078	0.078	0.078	0.078	CC
CE		0.156	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	CC
CE			0.156	0.156	0.156	0.156	0.156	0.156	0.156	0.156	CC
CE		0.312	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	CC
CE			0.312	0.312	0.312	0.312	0.312	0.312	0.312	0.312	CC
CE		0.625	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	CC
CE			0.625	0.625	0.625	0.625	0.625	0.625	0.625	0.625	CC
CE		1.25	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	CC
CE			1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	CC
CE		2.5	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	CC
CE			2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	CC
CE		5	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	0.156	0.078	CC
CE			5	5	5	5	5	5	5	5	CC

CMI *Citrus sinensis* L. Osbeck: 2.5 µL/mL

CMI *Citrus japonica* Thumb: 1.25 µL/mL

CMI (5/0.039) \sum ICF: 5/2.5 + 0.039/1.25=2.031 (antagonismo)

CMI (2.5/0.078) \sum ICF: 2.5/2.5 + 0.078/1.25=1.062 (indiferencia)

CMI (1.25/0.156) \sum ICF: 1.25/2.5 + 0.156/1.25=0.625 (sinergismo parcial)

CMI (1.25/0.312) \sum ICF: 1.25/2.5 + 0.312/1.25=0.750 (sinergismo parcial)

CMI (0.625/0.625) \sum ICF: 0.625/2.5 + 0.625/1.25=0.750 (sinergismo parcial)

CMI (0.312/0.625) \sum ICF: 0.312/2.5 + 0.625/1.25=0.625 (sinergismo parcial)

CMI (0.156/0.625) \sum ICF: 0.156/2.5 + 0.625/1.25=0.562 (sinergismo parcial)

CMI (0.078/1.25) \sum ICF: 0.078/2.5 + 1.25/1.25=1.031 (indiferencia)

V. DISCUSIÓN

Diversas investigaciones como las de Guerra L. et al y Juárez J. et al¹⁰, han demostrado la existencia del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia”, pero no se han encontrado estudios del efecto combinado con otros aceites esenciales. En el presente estudio se logró demostrar la existencia de un efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* cepa-clínica y *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica siendo el primer estudio que demuestra dichos resultados antibacterianos de la combinación de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana”.

En nuestro estudio con respecto a *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” se encontró que no hubo ninguna actividad para Gram (-) : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* cepa clínica 1 y *Escherichia coli* cepa clínica 2 y sí se tuvo actividad promisorio para Gram (+) : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* cepa-clínica y *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica con un CMI de 40,10,40 y 2.5 µL/mL respectivamente a diferencia de la investigación de Guerra L. et al¹² obteniendo aceite esencial de *Citrus sinensis* L. en Venezuela por el método de hidrodestilación tuvo actividad antibacteriana significativa mediante el método de susceptibilidad de difusión en discos de Kirby-Bauer diluyendo el aceite esencial en etanol a 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 % obteniendo acción frente a Gram (-): *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 con un CMI de 9 y 10 % respectivamente y sin ninguna actividad frente a Gram (+): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, estas diferencias podrían deberse principalmente a las condiciones climáticas ,crecimiento ,proceso de extracción etc³⁹.

El rendimiento de la extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. en nuestro estudio mediante el método de destilación por arrastre de vapor de agua fue de 0.363% p/v a comparación del estudio de Juárez J. et al.¹⁰ que fue de 0.4 % p/v bajo el mismo método. La gravedad específica a 20 °C del aceite esencial

en nuestro estudio fue de 0.838 g/mL y la del autor¹⁰ fue de 0.879 g/mL en las mismas condiciones. Los compuestos químicos mayoritarios identificados en nuestro estudio fueron D-Limoneno (92.19%), β -Mirceno (3.48%), α -Pineno (1.88 %) para un tiempo de corrida de 3 a 50 min y para Juárez J. et al.¹⁰ fue limoneno, β -linalol, decanal y 2(10)-pineno, (1S,5S)-(-)- compuestos similares a nuestro estudio por lo que estos compuestos podrían ser responsables de la actividad biológica. El rendimiento, la gravedad específica y la identificación de compuestos químicos son similares y las pequeñas diferencias pueden deberse a las características geográficas, época y zona de recolección¹⁰. En nuestro estudio se obtuvo buena actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Staphylococcus epidermidis* cepa clínica con un CMI de 40 y 2.5 μ L/mL dicha actividad concuerda con lo reportado por Juárez J. et al.¹⁰ que evaluó en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25933, *Staphylococcus epidermidis* cepa clínica obteniendo actividad antibacteriana significativa a las concentraciones de 100 % y 50% respectivamente obteniéndose en nuestro estudio una actividad a menor concentración que la señalada por Juárez J. et al.¹⁰.

Los estudios sobre la composición química y las actividades biológicas de *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” son limitados sin embargo poseen beneficios para la salud debido a que poseen antioxidantes, minerales y fibra dietaria^{8,9,33}.

En nuestro estudio se determinaron 23 componentes químicos en el aceite esencial de *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” siendo D-Limoneno (93.66%), β -Mirceno (3.40%) y α - Pineno (1.74%) los compuestos mayoritarios y 0.05 % de alcohol linalool a comparación de Wang Y. et al.⁷ que encontró 25 componentes de la misma muestra bajo la misma técnica de extracción que nuestro estudio de los cuales destaca el limoneno (74.79%), mirceno (7.11%), canfeno (1.43%), α -selineno (0.7%), α -pineno (0.34%), 3.4-dimetil estireno (0.32%) y β -elemeno (0.29%) y 0.30 % de alcohol linalool ; esta variación del contenido químico de los aceites esenciales se encuentran condicionados por factores entre los más importantes el origen, condiciones climáticas y de crecimiento, etc¹. Wang Y. et al.⁷ señala que el limoneno presenta débil actividad antimicrobiana pero que puede mejorar dicha acción con la presencia de alcoholes bioactivos como el linalool debido a que este último posee potentes

efectos antimicrobianos y en combinación con α -pineno presentan actividad antifúngica y al observar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Fortunella crassifolia* Swingle “naranja enana” frente a *B.subtilis* se observó células con citoplasma incompleto, las paredes celulares y las membranas se desintegraron parcialmente lo que provocó la salida del citoplasma de esta manera lograron alterar la fluidez y la permeabilidad celular al entrar entre las cadenas de ácido graso de la membrana celular por lo que se puede extraer que en nuestro estudio tuvo similar mecanismo de acción frente a cepas Gram (+) ya que estas son más sensibles que las Gram (-) a los aceites esenciales debido a que la última posee membrana externa rígida rica en polisacáridos y más compleja mientras que la primera posee una pared de peptidoglicano⁷. En nuestro estudio se evaluó la actividad antibacteriana mediante el método de microdilución colorimétrica obteniéndose actividad promisorio para Gram (+) (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* cepa-clínica y *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica) con una CMI de 10,5,10 y 1.25 $\mu\text{L/mL}$ respectivamente y no se tuvo ningún efecto para Gram (-) (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* cepa clínica 1 y *Escherichia coli* cepa clínica 2) a comparación de Wang Y. et al.⁷ que evaluó la actividad antibacteriana mediante el método de dilución de micropocillos obteniendo actividad promisorio para Gram (-) (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028) , Gram (+) (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 21216, *Bacillus cereus* ATCC 10231, *Lactobacillus bulgaricus* ATCC 11842) y *Candida albicans* ATCC 50013 cuyo CMI fue para Gram (-) de 50 y 70 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente y para Gram (+) entre 65,47.5,37.5,67.5 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente y para *Candida albicans* ATCC 50013 fue de 70 $\mu\text{g/mL}$ entonces analizando el CMI para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 para nuestro estudio fue de 10 $\mu\text{L/mL}$ (densidad:0.831 g/mL) equivalente a 8.31 $\mu\text{g/mL}$,estos resultados difieren de los encontrados por Wang Y. et al.⁷ que encontró un CMI de 65 $\mu\text{g/mL}$ valores más elevados de los encontrados en nuestro estudio esto podría deberse a que la variación del contenido químico de los aceites esenciales se encuentran condicionados por factores como el origen, condiciones climáticas y de crecimiento ^{1,7,39}.

Los aceites esenciales son compuestos complejos volátiles que pueden presentar actividad antimicrobiana potente por un solo compuesto principal o por el efecto sinérgico de varios compuestos. No se ha encontrado estudios anteriores con respecto a la actividad antibacteriana combinada de las dos especies estudiadas, pero sí de otras especies como lo realizó Méndez demostrando el efecto sinérgico entre los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli*⁶³. Imael N. et al. han recopilado los estudios de la actividad antimicrobiana combinada de aceites esenciales en donde el método de tablero de ajedrez es el método más usado para determinar la concentración fraccional inhibitoria (ICF)⁶⁴ ver Anexo 5.

En el presente estudio, al evaluar la asociación de los aceites esenciales extraídos de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” se determinó que las combinaciones de 10/0.625 µL/mL, 5/0.625 µL/mL, 5/1.25 µL/mL y 5/2.5 µL/mL presentaron sinergismo antibacteriano; 20/0.312 µL/mL y 2.5/5 µL/mL presentaron sinergismo parcial antibacteriano y 1.25/10 µL/mL presentaron indiferencia antibacteriana sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

En el presente estudio, al evaluar la asociación de los aceites esenciales extraídos de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” se determinó que las combinaciones de 2.5/0.312 µL/mL, 1.25/0.625 µL/mL y 0.625/1.25 µL/mL presentaron sinergismo antibacteriano; 5/0.312 µL/mL y 0.625/2.5 µL/mL presentaron sinergismo parcial antibacteriano y 10/0.156 µL/mL y 0.312/5 µL/mL presentaron indiferencia antibacteriana sobre la cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Al evaluar la asociación de los aceites esenciales extraídos de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” se determinó que las combinaciones de 10/0.625 µL/mL, 5/1.25 µL/mL y 2.5/2.5 µL/mL presentaron sinergismo antibacteriano; 20/0.312 µL/mL y 1.25/5 µL/mL presentaron sinergismo parcial antibacteriano sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* cepa-clínica.

Al evaluar la asociación de los aceites esenciales extraídos de *Citrus sinensis* L. Osbeck “naranja valencia” y *Citrus japonica* Thumb. “naranja enana” se

determinó que las combinaciones de 1.25/0.312 $\mu\text{L/mL}$ y 2.5/5 $\mu\text{L/mL}$ presentaron sinergismo parcial antibacteriano y 1.25/10 $\mu\text{L/mL}$ presentaron indiferencia antibacteriana sobre la cepa de *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica.

VI. CONCLUSIONES

1. Los compuestos químicos volátiles fueron determinados por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/EM) cuya composición química mayoritaria del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia" fue D-Limoneno (92.19 %), β -Mirceno (3.48%) y α -Pineno (1.88 %) y para *Citrus japonica* Thumb fue "naranja enana" D-Limoneno (93.66 %), β -Mirceno (3.40%) y α -Pineno (1.74 %).
2. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) fue determinada mediante el método de microdilución colorimétrica obteniendo actividad antibacteriana significativa para cepas Gram (+) de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* cepa-clínica, *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica con CMI de 40, 10, 40, 2.5 μ L/mL para el aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia" y de 10, 5, 10, 1.25 μ L/mL para el aceite esencial de *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana" respectivamente y sin ninguna actividad para cepas Gram (-) de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* cepa-clínica 1 y *Escherichia coli* cepa-clínica 2.
3. La actividad antibacteriana combinada de *Citrus sinensis* L. Osbeck "naranja valencia" y *Citrus japonica* Thumb. "naranja enana" presentó con respecto a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sinergismo a las concentraciones de 10/0.625, 5/0.625, 5/1.25 μ L/mL y sinergismo parcial a las concentraciones de 20/0.312, 2.5/5 μ L/mL; *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 presentó sinergismo a las concentraciones de 2.5/0.312, 1.25/0.625, 0.625/1.25 μ L/mL y sinergismo parcial a las concentraciones de 5/0.312, 0.625/2.5 μ L/mL; *Staphylococcus aureus* cepa-clínica presentó sinergismo a las concentraciones de 10/0.625, 5/1.25, 2.5/2.5 μ L/mL y sinergismo parcial a las concentraciones de 20/0.312, 1.25/5 μ L/mL y por último para *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica presentó sinergismo parcial a las concentraciones de 1.25/0.312, 2.5/5 μ L/mL.

VII. RECOMENDACIONES

1. Desarrollar el estudio del efecto sinérgico de un antibacteriano convencional en combinación con aceites esenciales.
2. Determinar la concentración mínima bacteriana y concentración mínima bactericida en la combinación de las dos especies estudiadas para complementar el estudio.
3. Desarrollar estudios de la actividad antibacteriana de los aceites esenciales en fase vapor para complementar el estudio.
4. Realizar investigaciones de la actividad antimicrobiana de la combinación de aceites esenciales con nanopartículas funcionalizadas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rueda Y, Mancilla L, Parada D. Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). Universidad de Pamplona. Colombia. Bistua. 2007; 5(1): 3-8.
2. Pitarch C. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales. Estudio in vitro del aromatograma de 85 aceites esenciales. Laboratorio de Análisis Clínico. Natura Medicatrix. Valencia; 2000.
3. García C. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. Acta méd. Peruana. 2012; 29 (2): 99-103.
4. Zekaria D. Los aceites esenciales, una alternativa a los antimicrobianos. [Internet] Laboratorios Calier. 2007. [consultado 10 mayo 2018]. Disponible en: http://www.wpsa-aeca.es/articulo.php?id_articulo=846.
5. Cordiés L, Manchado L. Combinaciones de antimicrobianos. Acta Med. 1998; 8(1): 101-104.
6. Quevedo A. Las fascinantes esencias de cítricos frente al insomnio. La vanguardia. Escuela de Aromaterapia Médica. Barcelona; 2015.
7. Wang Y, Zeng W, Xu P, Lan Y, Zhu R, Zong K. et al. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Kumquat (*Fortunella crassifolia* Swingle) Peel. Int J Mol Sci. 2012; 13(3): 3382-3393.
8. Fitsiou E, Mitropoulou G, Spyridopoulou K, Tiptiri-Kourpeti A, Vamvakias M, Bardouki H. et al. Phytochemical Profile and Evaluation of the Biological Activities of Essential Oils Derived from the Greek Aromatic Plant Species *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata*, *Pimpinella anisum* and *Fortunella margarita* Molecules. 2016; 21 (8) :106-109.
9. Lou S., Ho C. Phenolic compounds and biological activities of small-size citrus: Kumquat and calamondin. Department of Food Science, National Ilan University, Ilan, Taiwan. Department of Food Science, Rutgers University, New Brunswick, NJ, USA. Journal of Food and Drug Analysis. 2017; 25:162-175.

10. Juárez J, Castro A, Jaúregui J, Lizano J, Carhuapoma M, Choquesillo F. et al. Composición Química, Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Citrus sinensis* L. (Naranja Dulce) y Formulación de una Forma Farmacéutica. Ciencia e Investigación. Perú. 2010; 13: 9-13.
11. García A. Organización de la diversidad genética de los cítricos [Tesis de Postgrado]. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia; 2013.
12. Guerra L, Soto L, Medina Z, Ojeda G, Peña J. Actividad antibacteriana del aceite esencial de cortezas de naranja (*Citrus sinensis*) var. Valencia frente a microorganismos Gram positivos y Gram negativos. Rev Fac Agron. Venezuela. 2014; 31: 215-232.
13. Torrenegra M, Pájaro N, Méndez G. Actividad antibacteriana *in vitro* de aceites esenciales de diferentes especies del género *Citrus*. Rev Colomb Cienc Quím. Farm. 2017; 46(2): 160-175.
14. Choi H. Characteristic Odor Components of Kumquat (*Fortunella japonica* Swingle) Peel Oil. J Agric Food Chem. 2005; 53(5):1642-1647.
15. Zevallos L. Investigación en plantas medicinales de importancia terapéutica. Tesis. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2015.
16. Temas de Farmacognosia. Plantas medicinales. Definición de principio activo[online]; Disponible en: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/farmacognosia/principio-activo/>
17. United States Agency International Development (USAID). Plantas Medicinales y Aromáticas; 2010.
18. López M. Fitoterapia. Los aceites esenciales. Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. Barcelona. 2004; 23 (7): 89-91.
19. Romero M. Plantas aromáticas. Tratado de aromaterapia científica. 1^{ra} edición. Buenos Aires; 2004.
20. León B. et al. El libro rojo de las plantas endémicas del Perú. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. Rev. Perú biol. [Recuperado el 10 Nov 2018]. 2006; 13 (2): 7 s. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v13n2/contenido.htm>

21. Coy C, Cuca L, Quintero C. Farmacognosia y farmacobotánica de especies pertenecientes a los géneros *Esenbeckia* y *Raputia* (Rutaceae). Universidad Militar Nueva Granada, Rev. Cubana de Plantas Medicinales. 2013; 18 (4): 638-653.
22. Vilcahuamán R. Caracterización morfológica y comparativa de “lima de olor” de omate *Citrus x limettioides* para lograr la denominación de origen [Tesis]. Arequipa: Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Agustín; 2015.
23. Stampella P, Delucchi G, Keller H, Hurrell J. Etnobotánica de *Citrus reticulata* (Rutaceae, Aurantioideae) naturalizada en la Argentina. Bonplandia. 2014; 23 (2): 151-162.
24. Sandoval J. Programa Estratégico para el Desarrollo Rural Sustentable de la Región Sur-Sureste de México: Trópico Húmedo 2011. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Golfo Centro; Veracruz; 2011.
25. Perfil de Producto Naranja. Centro de Formación Empresarial. Universidad EARTH.2004. [Recuperado el 15 de noviembre]. Disponible en: <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/50000142.pdf>.
26. Cítricos. Ministerio de Agricultura. Perú.[Online].Lima;2008.Disponible en:<http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/herramientas/organizaciones/dgca/citricos.pdf>.
27. Tropicos.[Online].Disponible en: <http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?exact=true&name=Citrus+sinensis&commonname=>.
28. Laguna E. Nombre botánico de algunos grupos de especies cultivadas o asilvestradas en el oriente ibérico, I. Flora Montiberica 2000; 14(2): 40-47.
29. Hernández J. Crecimiento y producción de naranja cv. Valencia Citrus sinensis (L.) Osbeck, como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizante. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Ciencias Agronómicas Medellín, Colombia;2014.

30. Morin C. Cultivo de Cítricos. Universidad Nacional Agraria la Molina. [internet]. Lima, Perú;1980. [Recuperado el 29 de noviembre].URL disponible en:
https://books.google.com.pe/books?id=fxsPAQAAIAAJ&pg=PA38&lpg=PA38&dq=asociacion+de+productores+de+citricos+del+peru+zonas+de+cultivo&source=bl&ots=OTd_2OabdM&sig=G4FcJVBEw3hwE9MGOpIQH124euU&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjufuPgOPcAhWMIJAKHZ7nBj44ChDoATANegQIAhAB#v=onepage&q=asociacion%20de%20productores%20de%20citricos%20del%20peru%20zonas%20de%20cultivo&f=false
31. Análisis Económico de principales frutas y verduras. Dirección General de Políticas Agrarias. Ministerio de Agricultura y Riego del Perú; 2017.
32. Medicina Intercultural. La medicina tradicional y la medicina académica junto. [internet]. Disponible en: <http://medicinaintercultural.org/cd/plantas/naranja>
33. Razeto C. Desarrollo de Kumquat (Fortunella margarita) apertizado en almíbar y evaluación de sus características físicas, químicas y sensoriales [Tesis de Postgrado]. Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile; 2007.
34. Antumapu. Chile bajo la lupa agronómica. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. Rev de extensión y comunicación Agropecuaria y Medio Ambiental.2009; 7(1-2).
35. Martínez A. Aceites esenciales. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia; 2001.Disponible en: http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
36. López M. Los aceites esenciales. Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. Fitoterapia; 2004.
- 37.Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales extraídos de Plantas Medicinales y Aromáticas. SENA. [Online].Disponible en: https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/pdf/ACEITES%20ESENCIALES%20

38. Ortuño M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. España: Editorial AIYANA; 2006.
39. Usano J, Palá J, Díaz S. Aceites esenciales: Conceptos básicos y actividad antibacteriana. Reduca (Biología). Serie Botánica. 2014; 7(2): 60-70.
40. Ortega L. Sinergismo antibacteriano entre compuestos terpénicos de *Cymbopogon citratus* y azufrados de *Allium cepa* [Tesis de Postgrado]. Hermosillo: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C-CIAD; 2013.
41. Meletiadis J. Pournaras S. Roilides E. Walsh T. Defining Fractional Inhibitory Concentration Index Cutoffs for Additive Interactions Based on Self-Drug Additive Combinations, Monte Carlo Simulation Analysis, and *In Vitro-In Vivo* Correlation Data for Antifungal Drug Combinations against *Aspergillus fumigatus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology. University General Hospital. 2010; 54(2): 602-609.
42. Buldain D, Buchamer A, Marchetti L, Aliverti F, Borja C. et. al. Efecto antimicrobiano de la combinación de cloxacilina con aceite esencial de *Melaleuca armillaris* frente a *Staphylococcus aureus*. Universidad Nacional de La Plata. 2017; 37(2): 33-39.
43. Olivares M. López A. Potencial antimicrobiano de mezclas que incluyen aceites esenciales o sus componentes en fase vapor. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. Universidad de las Américas Puebla. 2013; 7(1): 78-86.
44. Chouhan S. Sharma K. Guleria S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils-Present Status and Future Perspectives. 2017; 4(3): 58.
45. Imael N. Rodolfo H. Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. Laboratoire BAEBIB. Université de Ouagadougou. 2012; 17: 3989-4006; 2012.

46. Compean K. Ynalvez R. Antimicrobial Activity of Plant Secondary Metabolites: A review. Research Journal of Medicinal Plant. Departamento of Biology and Chemistry. Texas A and M International University.USA.2014; 8(5): 204-213.
47. Daciana C, Bara I. Plant Products as antimicrobial agents. Analele Stiintifice ale Universitatii «Alexandru Ioan Cuza» din Iasi Sec II a Genetica si Biologie Moleculara. 2007; vol 8.
48. Domingo D. López M. Plantas con acción antimicrobiana. Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid. Rev Esp Quimioterap.2014;16 (4):385-393.
49. Perdomo D, Palomarez B. Extracción y evaluación de rendimiento de los aceites esenciales del árbol *Aniba Perutilis Hemsley* (Comino) mediante el método de arrastre con vapor [Tesis]. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Florencia: CEAD; 2015.
50. De La Cruz G., Jaico M. Características fisicoquímicas y determinación del porcentaje relativo de sus componentes hidrocarbonados y oxigenados del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) procedente del jardín botánico de plantas medicinales Bertha Rosa Elena De Los Ríos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. [Tesis].Trujillo; 2016.
- 51.Mendoza M., Pérez Y. Análisis de parámetros fisicoquímicos y organolépticos de un aceite esencial de cáscara de naranja “*Citrus sinensis*” obtenido por medio de la destilación por arrastre de vapor [TESIS].Trujillo: Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
52. León G., Del Rosario M. Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Revista Cubana de Farmacia.2015; 49(4): 742-750.
53. Elshikh M. Ahmed S. Funston S. Dunlop P. McGaw M. et al. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. Biotechnol Lett. 2016; 38 (6): 1015-9.

54. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M07-A10. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Tenth Edition. Estados Unidos; 2015.
55. Quinteros N. Estudio comparativo de la actividad antibacteriana y antioxidante de los extractos etanólicos de *Croton thurifer* Kunth y *Croton collinus* Kunth [TESIS]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
56. Herrera M. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana. Metodología de laboratorio. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica).1999; 34:1017-8546.
57. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.28th Edition. USA; 2018
58. Gonzáles M., Hernández N., Betancour E., Hernández Y., Medina R. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* proveniente en trabajadores de un hospital pediátrico. Rev. Ciencias Médicas de Pinar del Río.2018; 22(3): 428-437.
59. Alderete H. Actividad antimicrobiana, antioxidante in vitro y determinación de la composición química de tres aceites esenciales del género *Senecio* del Perú. [Tesis]. Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM; 2017.
60. Malbrán C. Protocolo para determinación de Concentración Inhibitoria Mínima por el Método de Microdilución. Aplicación para determinar la sensibilidad a Colistín. Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-AMLIS.[Online].2017.Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-CIM-microdiluci%C3%B3n-COL-version2-Agosto-2017.pdf>
61. Paredes PF, Vasconcelos F, Paim R, Marques M, De Moraes SM, Lira S, et al. Screening of Bioactivities and Toxicity of *Cnidocolus quercifolius* Pohl. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.2016;2016(1):1-9.
62. Cachicatari V. Palomino M. Evaluación de la sinergia de la asociación de antibióticos de productos farmacéuticos de uso veterinario [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.

63. Mendez C. Efecto sinérgico in vitro de aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli* [Tesis]. Trujillo: Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
64. Imael N. Rodolfo H. Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. Laboratoire BAEBIB. Université de Ouagadougou.2012; 17: 3989-4006.

IX. ANEXOS

MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

Materiales.

- Pipetas de vidrio 10 mL.
- Pera de decantación de 100 mL.
- Embudo de vidrio de 50 mL.
- Probeta 100 mL.
- Tubos de ensayo de vidrio.
- Baguetas de vidrio.
- Frascos de vidrio ámbar 10 mL.
- Frascos de vidrio 200 mL, 500 mL.
- Placas Petri descartables.
- Microplaca estéril de polipropileno de 96 pocillos con fondo en U (Brand).
- Micropipeta multicanal (Eppendorf) de 1000 µL.
- Micropipetas (Eppendorf) de 100 µL y 1000 µL.
- Tips descartables.
- Reservorios de 12 carriles.
- Rack de 96 tips.
- Viales de vidrio 5 mL, 10 mL.

Material Vegetal

- *Citrus sinensis* L. Osbeck.
- *Citrus japonica* Thumb.
- *Staphylococcus epidermidis* cepa-clínica

Medios de cultivo

- Caldo Mueller Hinton (Merck)
- Agar Mueller Hinton (Merck)

Reactivos

- Agua destilada.
- Resazurina (Sigma-Aldrich, USAI).
- Cloruro de sodio (Merck)
- Ciprofloxacino (Potencia:94.10%t/c, humedad:5.86%)
- Agua estéril

Equipos

- Balanza analítica (Modelo: Sartorius).
- Equipo de destilación por arrastre de vapor de acero inoxidable.
- Picnómetro de 1.5 mL.
- Refrigeradora (Modelo: Coldex).
- Cromatógrafo de Gases Shimadzu, GC-210 Plus. /Espectrometría de Masas Shimadzu, GCMS-QP210 Ultra (CG/EM).
- Cabina de flujo laminar (Modelo: TELSTAR BIO II ADVANCE).
- Autoclave (Modelo: MC-30LDP(ALP)).
- Horno microondas (Modelo: Royal).
- Incubadora (INCUCCELL).

ANEXO 1




UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
 VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 175-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fruto), recibida de **Katia Rubi PORRAS COCHACHI**; de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Citrus sinensis* L. Osbeck**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUB-CLASE: ROSIDAE
ORDEN: SAPINDALES
FAMILIA: RUTACEAE
GENERO: Citrus
ESPECIE: *Citrus sinensis* L. Osbeck

Nombre vulgar: "Naranja Valencia".
 Determinado por: Bigo., Mario Julio Benavente Palacios

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 09 de mayo de 2018



Mag. Asunción A. Cano Echevarría
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb.

Dir. División 1256, Jefe Herbario

Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:

018-7600-0850 5751, 5703, 5704

E-mail: museohistnatura@unsm.edu.pe

<http://museohistnatura.unsm.edu.pe>

Figura 29. Constancia de identificación botánica de *Citrus sinensis* L. Osbeck.
 “naranja valencia”

ANEXO 2




UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
 VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 176-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fruto), recibida de **Katla Rubí PORRAS COCHACHI**; de la de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Citrus japonica* Thumb.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUB-CLASE: ROSIDAE
ORDEN: SAPINDALES
FAMILIA: RUTACEAE
GENERO: Citrus
ESPECIE: Citrus japonica Thumb.

Nombre vulgar: "Naranja china".
 Determinado por: Bigo, Mario Julio Benavente Palacios

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 09 de mayo de 2018



Mg. Asunción A. Cano Echevarría
 JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb.

Av. Avenida 1255, Jesús María
 Apdo. 14-0254, Lima 18, Perú

Teléfono:
 619-7933 exts 5761, 5763, 5764

E-mail: maecano@unmsm.edu.pe
<http://herbario.unmsm.edu.pe>

Figura 30. Constancia de identificación botánica de *Citrus japonica* Thumb.
 "naranja enana"

ANEXO 3



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
LABICER (Laboratorio N° 12)
ANÁLISIS QUÍMICO, CONSULTORÍA E INVESTIGACIÓN



INFORME TÉCNICO N° 1273 - 18 - LABICER

1. DATOS DEL SOLICITANTE
 - 1.1 NOMBRES DE LAS SOLICITANTES : KATIA RUBÍ PORRAS COCHACHI
 - 1.2 DNI : 46431702
2. CRONOGRAMA DE FECHAS
 - 2.1 FECHA DE RECEPCIÓN : 24 / 07 / 2018
 - 2.2 FECHA DE ENSAYO : 25 / 07 / 2018
 - 2.3 FECHA DE EMISIÓN : 01 / 08 / 2018
3. ANÁLISIS SOLICITADO : ANÁLISIS DE ACEITE ESENCIAL *Citrus sinensis* L. Osbeck (Naranja valencia)
4. DATOS REFERENCIALES DE LA MUESTRA SEGÚN SOLICITANTE
 - 4.1 IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA : 01 MUESTRA DE ACEITE ESENCIAL DE *Citrus sinensis* L. Osbeck (Naranja valencia)
5. LUGAR DE RECEPCIÓN : LABORATORIO LABICER - FACULTAD DE CIENCIAS
6. CONDICIONES AMBIENTALES : Temperatura: 20.1 °C; Humedad relativa: 65%
7. DOCUMENTO DE REFERENCIA : Bilal Gurbuza, et. al. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) cultivation studies under Ankara ecological conditions. Industrial Crops and Products 88 (2016) 12-16.
8. EQUIPOS UTILIZADOS
 CROMATOGRAFO DE GASES: SHIMADZU, GC-2010 Plus.
 AUTOMUESTREADOR: SHIMADZU, AOC-6000.
 Detector de espectrometría de masas: SHIMADZU, GCMS-QP210 Ultra.
 COLUMNA GC: RESTEK, RTX-SMS, 30m x 0.25 mm ID x 0.25 µm df. Serial: 1346248.
9. RESULTADOS

MUESTRA	COMPONENTE PRINCIPAL <i>Análisis de Componentes Volátiles - Inyección por Headspace (HS)</i>	MÉTODO UTILIZADO
Aceite esencial de <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck (Naranja valencia)	 Componente mayoritario: D-Limonene	Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

*Ver en Anexos (Tabla N°1) la lista de compuestos de la muestra, obtenido por el software del equipo GCMSolution de SHIMADZU utilizando la librería NIST.

INFORME TÉCNICO N° 1273-18- LABICER

Página 1 de 4

Av. Túpac Amaru 210 Lima 31, Perú. Teléfono directo LABICER: 382 0500. E-mail: otilia@uni.edu.pe

Figura 31. Informe técnico del análisis de Cromatografía de Gases /Espectrometría de Masas para el aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Osbeck. “naranja valencia”

10. OBSERVACIONES

Se encontraron 19 componentes volátiles en la muestra de aceite esencial, siendo los componentes mayoritarios: D-Limonene (92,19 %), beta Myrcene (3,48 %) y alpha Pinene (1,68 %) (Porcentaje relativo calculado de las áreas del cromatograma de la muestra).

11. VALIDEZ DEL INFORME TÉCNICO

Los resultados de este Informe técnico son válido solo para la muestra proporcionada por el solicitante del servicio en las condiciones indicadas del presente informe técnico.


Bachir Jesús Utano Reyes
Analista
LABICER - UNI




Olga Acha de la Cruz
Responsable de Análisis
Jefa de laboratorio
CQP 202

El Laboratorio no se responsabiliza del muestreo ni de la procedencia de la muestra.

ANEXOS

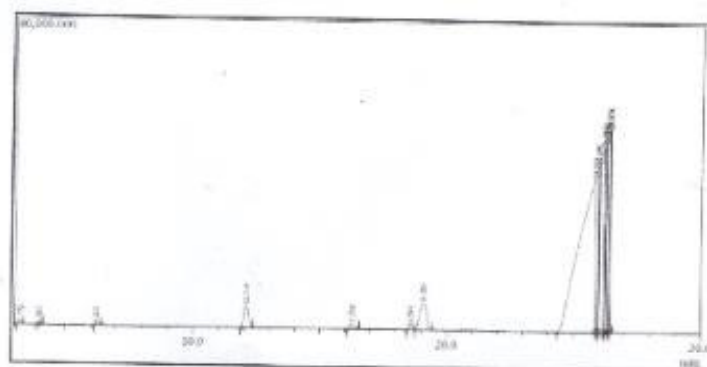


FIGURA N°1: PRIMERA PARTE DEL CROMATOGRAMA DE 3 A 30 MINUTOS

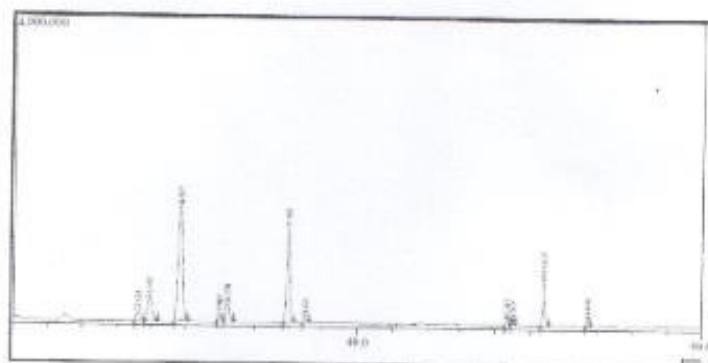


FIGURA N°2: SEGUNDA PARTE DEL CROMATOGRAMA DE 30 A 50 MINUTOS



**TABLA Nº1: RESULTADOS DE COMPOSICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE CITRUS SINENSIS L.
OSBECT (NARANJA VALENCIA)**

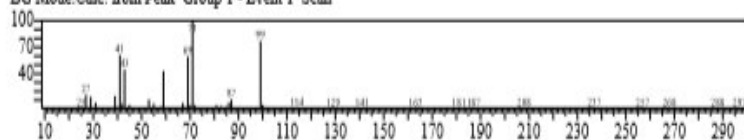
Peak#	R. Time	Area	Area%	Height	Height%	Name
1	3.197	1972944	0.11	188968	0.08	1-Penten-1-ol, 2-methyl-
2	3.962	748190	0.04	70895	0.03	2-Methoxy-2-methylbut-3-ene
3	6.203	1943633	0.10	188106	0.08	Furfural
4	12.106	35264581	1.88	2920225	1.29	alpha-Pinene
5	16.280	4894715	0.26	317081	0.14	beta-Phellandrene
6	18.594	5288776	0.28	355004	0.16	5-Hepten-2-one, 6-methyl-
7	19.085	65185114	3.48	3433252	1.51	beta-Mycene
8	25.815	860009894	45.94	2060607	8.84	D-Limonene
9	25.951	169549583	9.06	21743209	9.59	Limonene
10	25.975	32594548	1.74	21763142	9.60	Limonene
11	26.161	254518458	13.59	24058647	10.61	Limonene
12	26.207	79846875	4.26	2432469	10.72	1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl-
13	26.246	44175497	2.36	2465997	10.87	D-Limonene
14	26.310	97763440	5.22	25576162	11.29	Limonene
15	26.376	124623458	6.66	26377483	11.63	Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-
16	26.418	62893828	3.36	26487739	11.68	D-Limonene
17	33.620	993250	0.05	112613	0.05	3-Cyclohexene-1-acetaldehyde, alpha, 4-dimethyl-
18	33.952	2689684	0.14	292504	0.13	trans-Linalool oxide (humosol)
19	34.837	12786623	0.68	1464462	0.65	1-Octanol
20	35.985	435998	0.02	61678	0.03	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-
21	36.208	1543762	0.08	209864	0.09	trans-Linalool oxide (humosol)
22	37.985	7936933	0.42	1213192	0.53	Linalool
23	38.491	284781	0.02	50897	0.02	Nonanol
24	44.343	317843	0.02	67862	0.03	Terpinen-4-ol
25	44.519	188628	0.01	43353	0.02	1-Nonanol
26	45.415	3353583	0.18	683576	0.30	alpha-Terpinol
27	46.694	384967	0.02	89134	0.04	Decanol
		1872189586	100.00	226811205	100.00	



**FIGURA Nº3: FOTOGRAFÍA DEL CRÓMATOGRAFO DE GASES ACOPLADO
AL ESPECTRÓMETRO DE MASAS**

<< Target >>

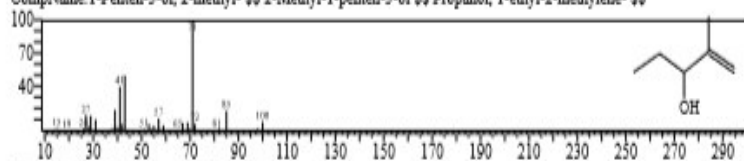
Line#1 R.Time:3.195(Scan#40) MassPeaks:167
RawMode:Averaged 3.190-3.200(39-41) BasePeak:71.00(34655)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:1915 Library:NIST14a.lib

SI:83 Formula:C6H12O CAS:2088-07-5 MolWeight:100 RetIndex:747

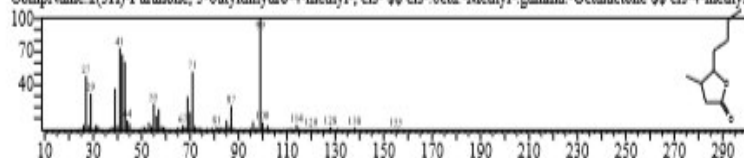
CompName:1-Penten-3-ol, 2-methyl- \$\$ 2-Methyl-1-penten-3-ol \$\$ Propanol, 1-ethyl-2-methylene- \$\$



Hit#2 Entry:10677 Library:NIST14a.lib

SI:81 Formula:C9H16O2 CAS:55013-32-6 MolWeight:156 RetIndex:1245

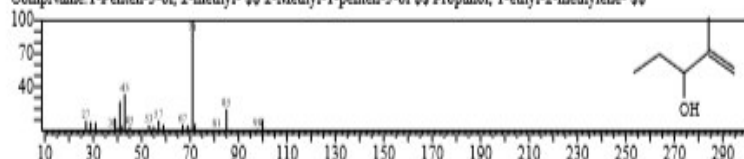
CompName:2(3H)-Furanone, 5-butyldihydro-4-methyl-, cis- \$\$ cis- beta- Methyl- gamma- Octalactone \$\$ cis-4-methyl-



Hit#3 Entry:1916 Library:NIST14a.lib

SI:80 Formula:C6H12O CAS:2088-07-5 MolWeight:100 RetIndex:747

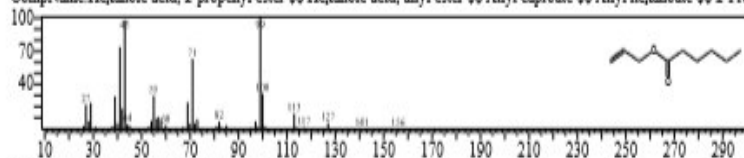
CompName:1-Penten-3-ol, 2-methyl- \$\$ 2-Methyl-1-penten-3-ol \$\$ Propanol, 1-ethyl-2-methylene- \$\$



Hit#4 Entry:10680 Library:NIST14a.lib

SI:79 Formula:C9H16O2 CAS:123-68-2 MolWeight:156 RetIndex:1073

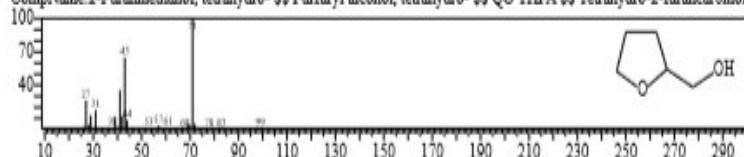
CompName:Hexanoic acid, 2-propenyl ester \$\$ Hexanoic acid, allyl ester \$\$ Allyl caproate \$\$ Allyl hexanoate \$\$ 2-Pro



Hit#5 Entry:2108 Library:NIST14a.lib

SI:79 Formula:C5H10O2 CAS:97-99-4 MolWeight:102 RetIndex:892

CompName:2-Furamethanol, tetrahydro- \$\$ Furfuryl alcohol, tetrahydro- \$\$ QO THFA \$\$ Tetrahydro-2-furancarbinol

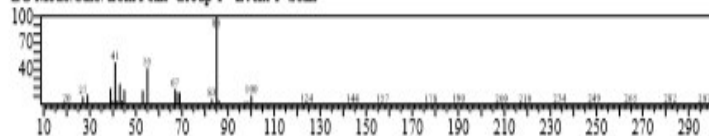


<< Target >>

Line# 2 R.Time: 3.960 (Scan# 193) MassPeaks: 175

RawMode: Averaged 3.955-3.965 (192-194) BasePeak: 85.05 (17256)

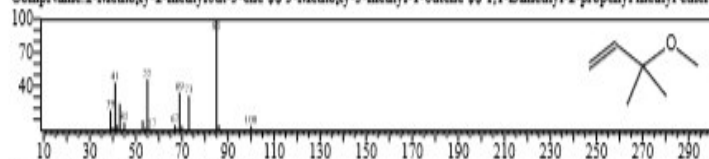
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 1921 Library: NIST14a.lib

SI: 85 Formula: C₆H₁₂O CAS: 40426-44-6 MolWeight: 100 RetIndex: 599

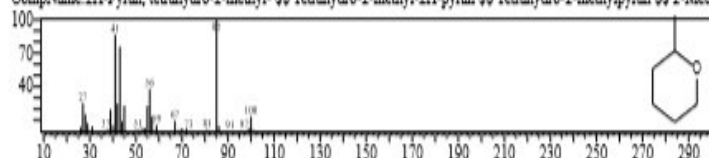
CompName: 2-Methoxy-2-methylbut-3-ene \$ 3-Methoxy-3-methyl-1-butene \$ 1,1-Dimethyl-2-propenyl methyl ether



Hit#2 Entry: 1919 Library: NIST14a.lib

SI: 83 Formula: C₆H₁₂O CAS: 10141-72-7 MolWeight: 100 RetIndex: 770

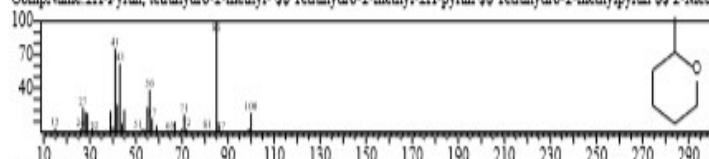
CompName: 2H-Pyran, tetrahydro-2-methyl- \$ Tetrahydro-2-methyl-2H-pyran \$ Tetrahydro-2-methylpyran \$ 2-Meth



Hit#3 Entry: 1920 Library: NIST14a.lib

SI: 83 Formula: C₆H₁₂O CAS: 10141-72-7 MolWeight: 100 RetIndex: 770

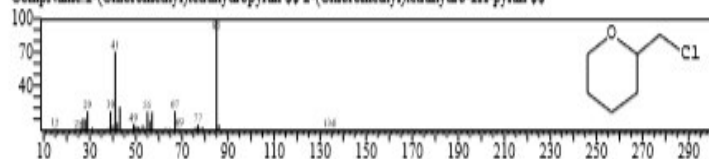
CompName: 2H-Pyran, tetrahydro-2-methyl- \$ Tetrahydro-2-methyl-2H-pyran \$ Tetrahydro-2-methylpyran \$ 2-Meth



Hit#4 Entry: 6231 Library: NIST14a.lib

SI: 82 Formula: C₆H₁₁ClO CAS: 18420-41-2 MolWeight: 134 RetIndex: 995

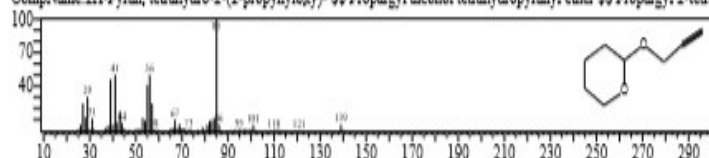
CompName: 2-(Chloromethyl)tetrahydropyran \$ 2-(Chloromethyl)tetrahydro-2H-pyran \$



Hit#5 Entry: 7479 Library: NIST14a.lib

SI: 82 Formula: C₈H₁₂O₂ CAS: 6089-04-9 MolWeight: 140 RetIndex: 1042

CompName: 2H-Pyran, tetrahydro-2-(2-propyloxy)- \$ Propargyl alcohol tetrahydropyranyl ether \$ Propargyl 2-tetra

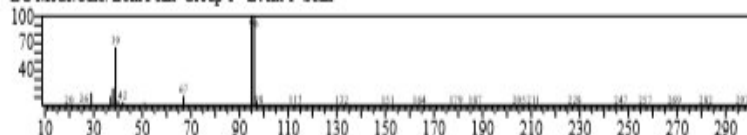


<< Target >>

Line# 3 R.Time: 6.205(Scan#: 642) MassPeaks: 179

RawMode: Averaged 6.200-6.210(641-643) BasePeak: 96.00(51076)

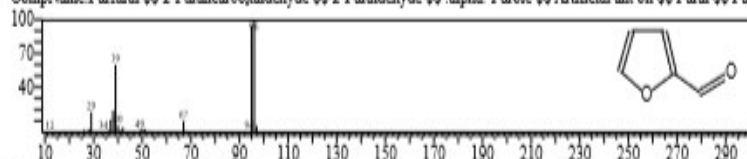
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 1400 Library: NIST14a.lib

SI: 98 Formula: C₅H₄O₂ CAS: 98-01-1 MolWeight: 96 RetIndex: 831

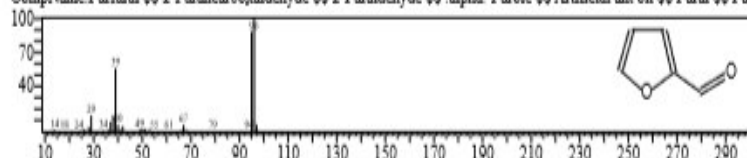
CompName: Furfural \$\$ 2-Furancarboxaldehyde \$\$ 2-Furaldehyde \$\$ alpha.-Furole \$\$ Artificial ant oil \$\$ Fural \$\$ Fur



Hit#2 Entry: 1399 Library: NIST14a.lib

SI: 97 Formula: C₅H₄O₂ CAS: 98-01-1 MolWeight: 96 RetIndex: 831

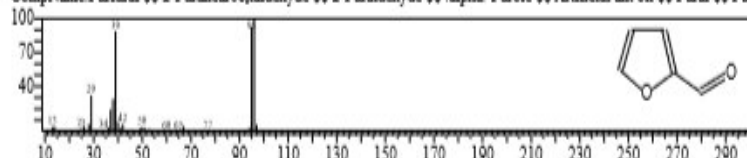
CompName: Furfural \$\$ 2-Furancarboxaldehyde \$\$ 2-Furaldehyde \$\$ alpha.-Furole \$\$ Artificial ant oil \$\$ Fural \$\$ Fur



Hit#3 Entry: 1398 Library: NIST14a.lib

SI: 94 Formula: C₅H₄O₂ CAS: 98-01-1 MolWeight: 96 RetIndex: 831

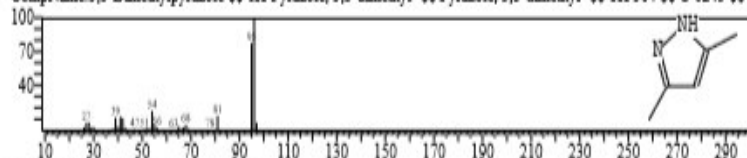
CompName: Furfural \$\$ 2-Furancarboxaldehyde \$\$ 2-Furaldehyde \$\$ alpha.-Furole \$\$ Artificial ant oil \$\$ Fural \$\$ Fur



Hit#4 Entry: 1413 Library: NIST14a.lib

SI: 80 Formula: C₅H₆N₂ CAS: 67-51-6 MolWeight: 96 RetIndex: 1010

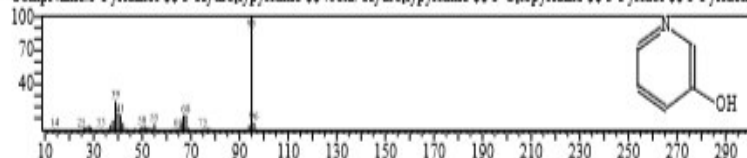
CompName: 3,5-Dimethylpyrazole \$\$ 1H-Pyrazole, 3,5-dimethyl- \$\$ Pyrazole, 3,5-dimethyl- \$\$ TH 564 \$\$ U 6245 \$\$:



Hit#5 Entry: 1363 Library: NIST14a.lib

SI: 80 Formula: C₅H₅NO CAS: 109-00-2 MolWeight: 95 RetIndex: 895

CompName: 3-Pyridinol \$\$ 3-Hydroxypyridine \$\$ beta.-Hydroxypyridine \$\$ 3-Oxopyridine \$\$ 3-Pyridol \$\$ 3-Pyridone

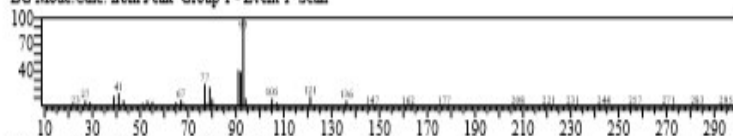


<< Target >>

Line# 4 R.Time: 12.105 (Scan# 1822) MassPeaks: 173

RawMode: Averaged 12.100-12.110 (1821-1823) BasePeak: 93.05 (743134)

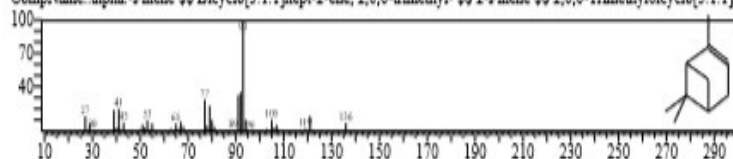
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 6850 Library: NIST14a.lib

SI: 96 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 80-56-8 MolWeight: 136 RefIndex: 948

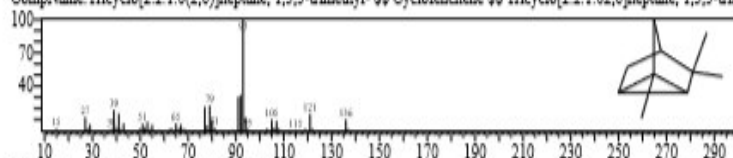
CompName: alpha-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- \$\$ 2-Pinene \$\$ 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]h



Hit#2 Entry: 6848 Library: NIST14a.lib

SI: 95 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 488-97-1 MolWeight: 136 RefIndex: 729

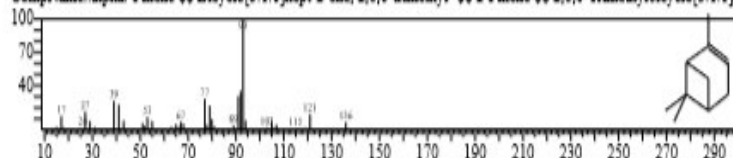
CompName: Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ Cyclofenchene \$\$ Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trim



Hit#3 Entry: 6849 Library: NIST14a.lib

SI: 93 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 80-56-8 MolWeight: 136 RefIndex: 948

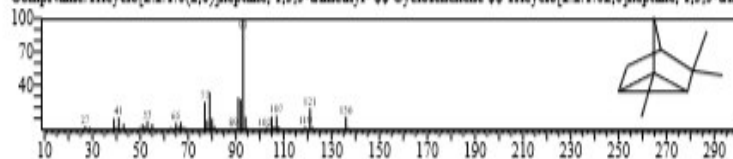
CompName: alpha-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- \$\$ 2-Pinene \$\$ 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]h



Hit#4 Entry: 6828 Library: NIST14a.lib

SI: 93 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 488-97-1 MolWeight: 136 RefIndex: 729

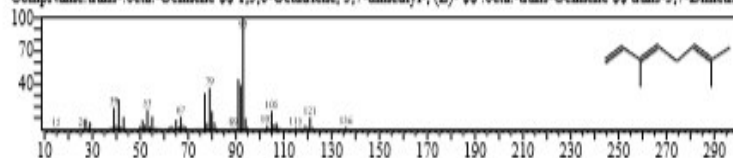
CompName: Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ Cyclofenchene \$\$ Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trim



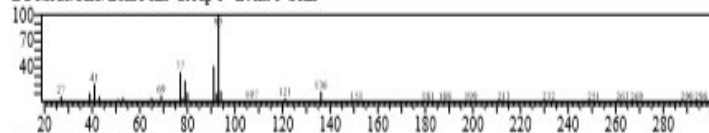
Hit#5 Entry: 6844 Library: NIST14a.lib

SI: 93 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 3779-61-1 MolWeight: 136 RefIndex: 976

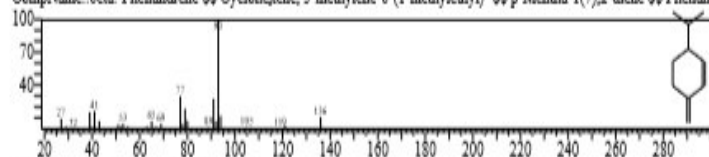
CompName: trans-beta-Ocimene \$\$ 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)- \$\$ beta-trans-Ocimene \$\$ trans-3,7-Dimethyl



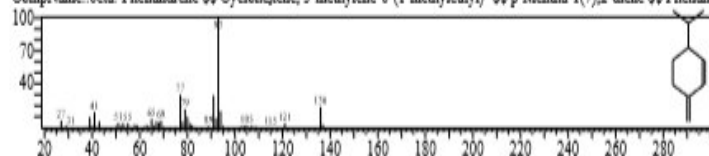
<< Target >>
 Line# 5 R.Time:16.280(Scan#:2657) MassPeaks:162
 RawMode:Averaged 16.275-16.285(2656-2658) BasePeak:93.05(86533)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



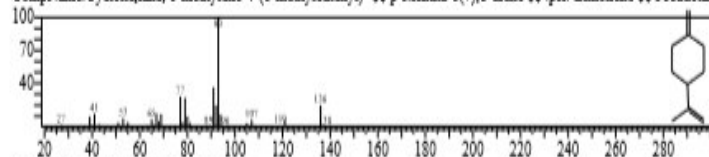
Hit# 1 Entry:6822 Library:NIST14s.lib
 SI:95 Formula:C10H16 CAS:555-10-2 MolWeight:136 RetIndex:964
 CompName: beta-Phellandrene \$\$ Cyclohexene, 3-methylene-6-(1-methylethyl)- \$\$ p-Mentha-1(7),2-diene \$\$ Phellandrene



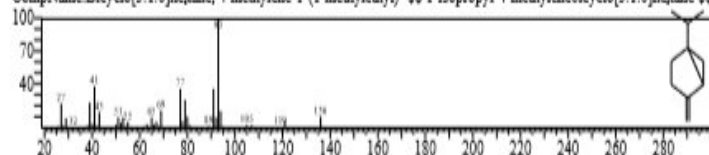
Hit# 2 Entry:6823 Library:NIST14s.lib
 SI:93 Formula:C10H16 CAS:555-10-2 MolWeight:136 RetIndex:964
 CompName: beta-Phellandrene \$\$ Cyclohexene, 3-methylene-6-(1-methylethyl)- \$\$ p-Mentha-1(7),2-diene \$\$ Phellandrene



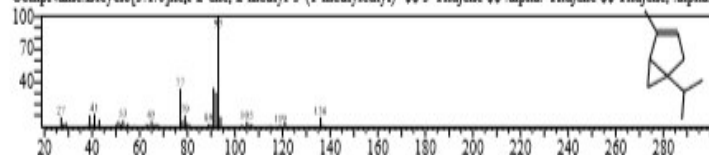
Hit# 3 Entry:6833 Library:NIST14s.lib
 SI:93 Formula:C10H16 CAS:499-97-8 MolWeight:136 RetIndex:1013
 CompName: Cyclohexane, 1-methylene-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1(7),8-diene \$\$ psi-Limonene \$\$ Pseudolimonene



Hit# 4 Entry:6817 Library:NIST14s.lib
 SI:92 Formula:C10H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:897
 CompName: Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- \$\$ 1-Isopropyl-4-methylenebicyclo[3.1.0]hexane



Hit# 5 Entry:6837 Library:NIST14s.lib
 SI:92 Formula:C10H16 CAS:2867-05-2 MolWeight:136 RetIndex:902
 CompName: Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- \$\$ 3-Thujene \$\$ alpha-Thujene \$\$ Thujene, alpha-



<< Target >>

Line# 6 R.Time:18.595(Scan#3120) MassPeaks:183

RawMode:Averaged 18.590-18.600(3119-3121) BasePeak:43.00(54611)

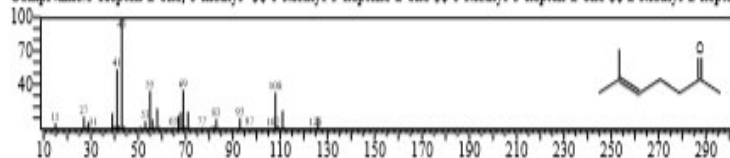
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:4924 Library:NIST14s.lib

SI:97 Formula:C8H14O CAS:110-93-0 MolWeight:126 RefIndex:938

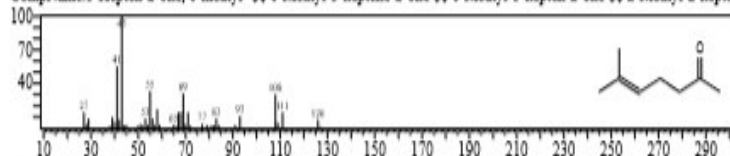
CompName:5-Hepten-2-one, 6-methyl- §§ 6-Methyl-5-heptene-2-one §§ 6-Methyl-5-hepten-2-one §§ 2-Methyl-2-hepten-5-one



Hit#2 Entry:4923 Library:NIST14s.lib

SI:95 Formula:C8H14O CAS:110-93-0 MolWeight:126 RefIndex:938

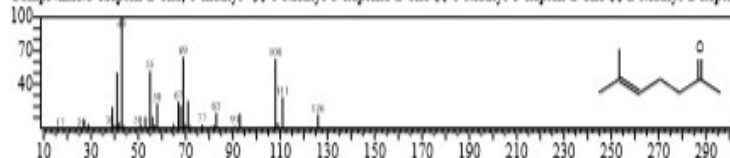
CompName:5-Hepten-2-one, 6-methyl- §§ 6-Methyl-5-heptene-2-one §§ 6-Methyl-5-hepten-2-one §§ 2-Methyl-2-hepten-5-one



Hit#3 Entry:4927 Library:NIST14s.lib

SI:91 Formula:C8H14O CAS:110-93-0 MolWeight:126 RefIndex:938

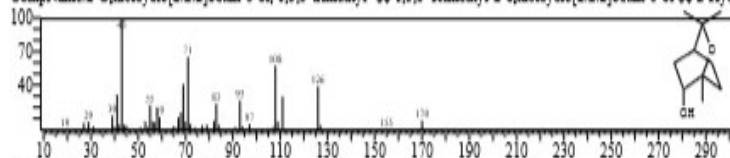
CompName:5-Hepten-2-one, 6-methyl- §§ 6-Methyl-5-heptene-2-one §§ 6-Methyl-5-hepten-2-one §§ 2-Methyl-2-hepten-5-one



Hit#4 Entry:13261 Library:NIST14s.lib

SI:85 Formula:C10H18O2 CAS:18679-48-6 MolWeight:170 RefIndex:1247

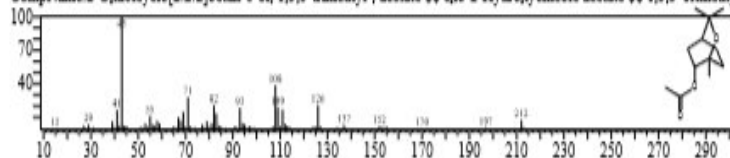
CompName:2-Oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol, 1,3,3-trimethyl- §§ 1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol §§ 2-Hydroxy-1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octane



Hit#5 Entry:20286 Library:NIST14s.lib

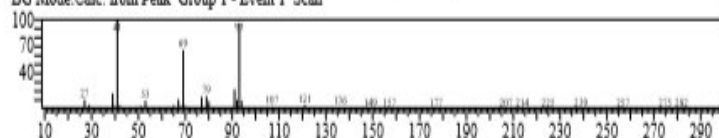
SI:83 Formula:C12H20O3 CAS:57709-95-2 MolWeight:212 RefIndex:1386

CompName:2-Oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol, 1,3,3-trimethyl-, acetate §§ exo-2-Hydroxycycloole acetate §§ 1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan-6-yl acetate

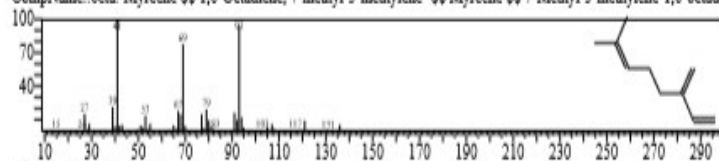


<< Target >>

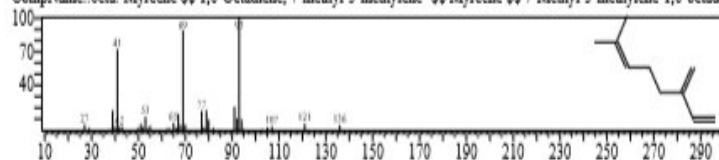
Line# 7 R.Time:19.085(Scan#3218) MassPeaks:167
RawMode:Averaged 19.080-19.090(3217-3219) BasePeak:41.00(735702)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



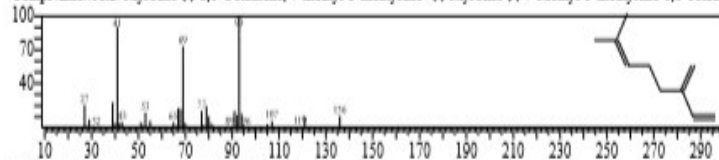
Hit#1 Entry:6778 Library:NIST14a.lib
SI:95 Formula:C10H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:958
CompName: beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene



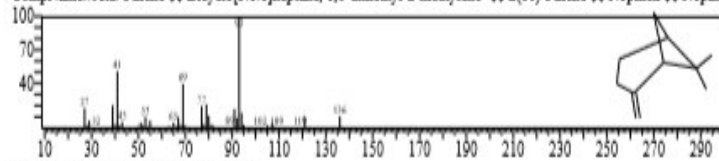
Hit#2 Entry:6820 Library:NIST14a.lib
SI:94 Formula:C10H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:958
CompName: beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene



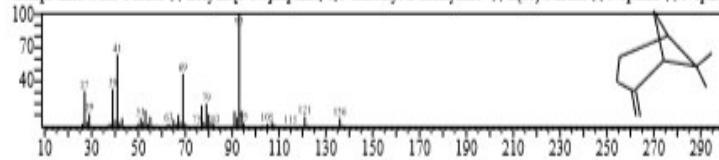
Hit#3 Entry:6810 Library:NIST14a.lib
SI:93 Formula:C10H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:958
CompName: beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene



Hit#4 Entry:6809 Library:NIST14a.lib
SI:90 Formula:C10H16 CAS:127-91-3 MolWeight:136 RetIndex:943
CompName: beta-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene- \$\$ 2(10)-Pinene \$\$ Nopinene \$\$ Nopinene



Hit#5 Entry:6807 Library:NIST14a.lib
SI:90 Formula:C10H16 CAS:127-91-3 MolWeight:136 RetIndex:943
CompName: beta-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene- \$\$ 2(10)-Pinene \$\$ Nopinene \$\$ Nopinene

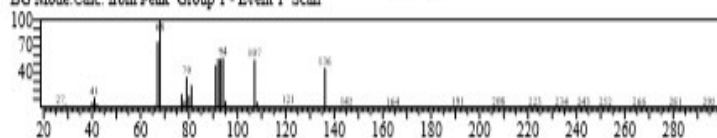


<< Target >>

Line#3 R.Time:25.815(Scan#4564) MassPeaks:157

RawMode:Averaged 25.810-25.820(4563-4565) BasePeak:68.05(34766)

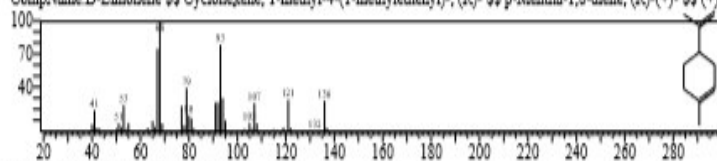
B/G Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:6793 Library:NIST14a.lib

SI:85 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018

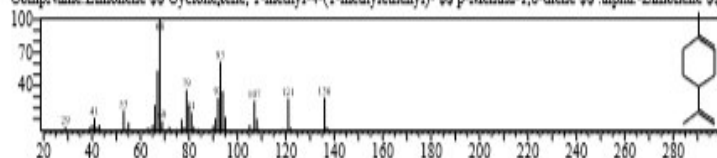
CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#2 Entry:6790 Library:NIST14a.lib

SI:84 Formula:C10H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RetIndex:1018

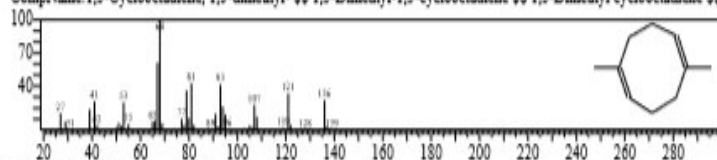
CompName:Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit#3 Entry:6784 Library:NIST14a.lib

SI:81 Formula:C10H16 CAS:3760-14-3 MolWeight:136 RetIndex:1103

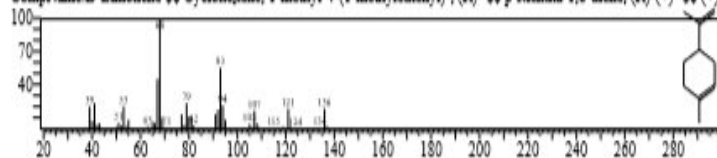
CompName:1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl- \$\$ 1,5-Dimethyl-1,5-cyclooctadiene \$\$ 1,5-Dimethyl cyclooctadiene \$\$



Hit#4 Entry:6791 Library:NIST14a.lib

SI:80 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018

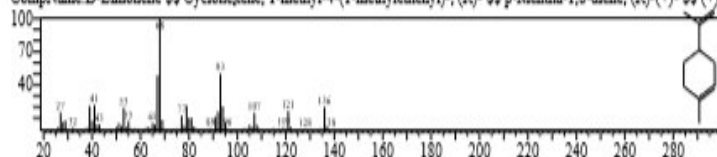
CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#5 Entry:6792 Library:NIST14a.lib

SI:80 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018

CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-

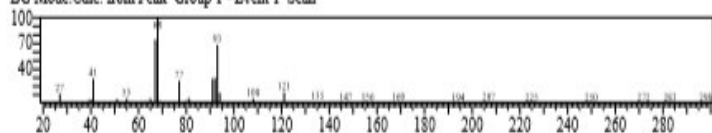


<< Target >>

Line# 9 R.Time:25.950(Scan#:4591) MassPeaks:164

RawMode:Averaged 25.945-25.955(4590-4592) BasePeak:68.05(36146)

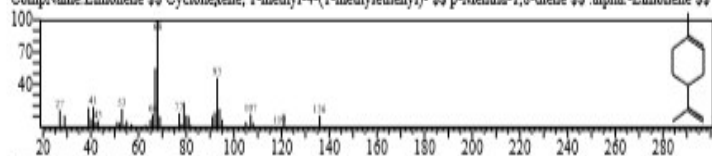
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:6785 Library:NIST14a.lib

SI:80 Formula:C10H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RetIndex:1018

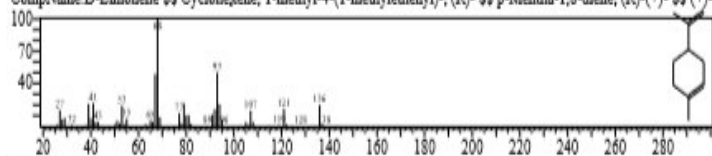
CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit#2 Entry:6792 Library:NIST14a.lib

SI:80 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018

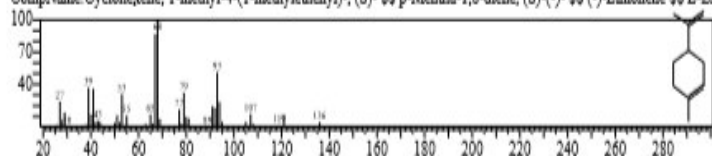
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#3 Entry:6787 Library:NIST14a.lib

SI:80 Formula:C10H16 CAS:5989-54-8 MolWeight:136 RetIndex:1018

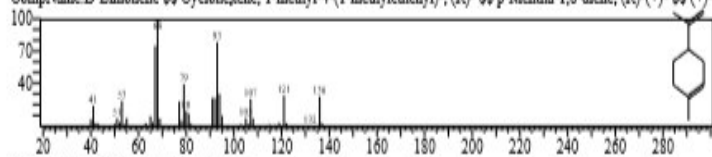
CompName: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (S)-(-)- \$\$ (-)-Limonene \$\$ L-Li



Hit#4 Entry:6793 Library:NIST14a.lib

SI:79 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018

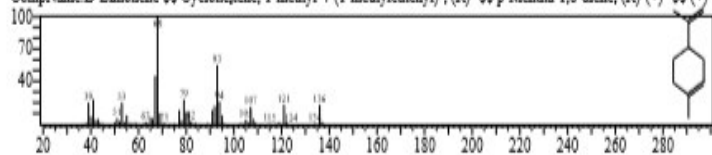
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#5 Entry:6791 Library:NIST14a.lib

SI:78 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018

CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-

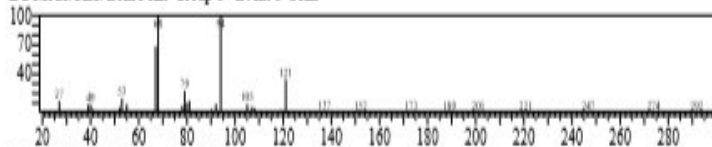


<< Target >>

Line# 11 RTime: 26.160(Scan# 4633) MassPeaks: 164

RawMode: Averaged 26.155-26.165(4632-4634) BasePeak: 94.05(40327)

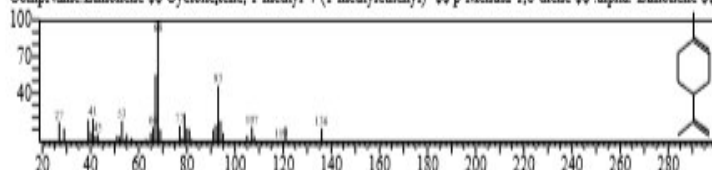
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 6785 Library: NIST14a.lib

SI: 76 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RefIndex: 1018

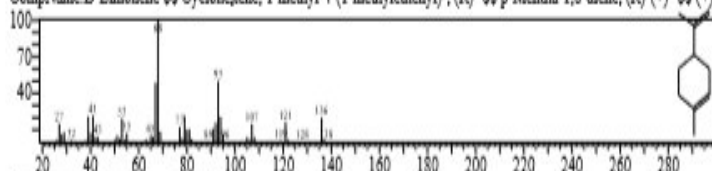
CompName: Limonene C1=CC2=C(C1)C=CC2(C)C C1=CC2=C(C1)C=CC2(C)C



Hit# 2 Entry: 6792 Library: NIST14a.lib

SI: 75 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RefIndex: 1018

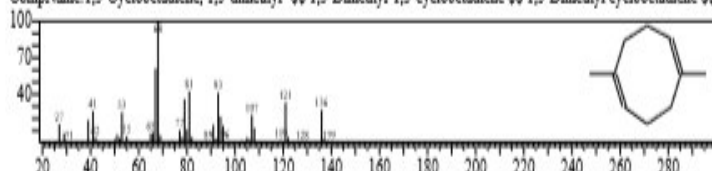
CompName: D-Limonene C1=CC2=C(C1)C=CC2(C)C C1=CC2=C(C1)C=CC2(C)C



Hit# 3 Entry: 6784 Library: NIST14a.lib

SI: 74 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 3760-14-3 MolWeight: 136 RefIndex: 1103

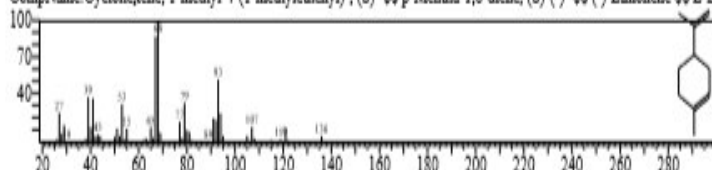
CompName: 1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl- C1=CC2=CC=CC2=C1 C1=CC2=CC=CC2=C1



Hit# 4 Entry: 6787 Library: NIST14a.lib

SI: 74 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 5989-54-8 MolWeight: 136 RefIndex: 1018

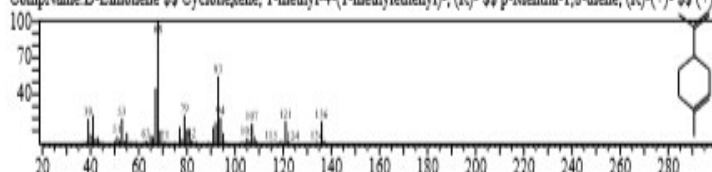
CompName: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)- C1=CC2=C(C1)C=CC2(C)C C1=CC2=C(C1)C=CC2(C)C



Hit# 5 Entry: 6791 Library: NIST14a.lib

SI: 73 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RefIndex: 1018

CompName: D-Limonene C1=CC2=C(C1)C=CC2(C)C C1=CC2=C(C1)C=CC2(C)C

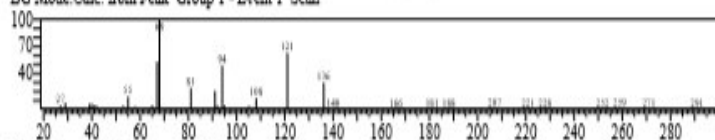


<< Target >>

Line# 12 R.Time: 26.205 (Scan# 4642) MassPeaks: 147

RawMode: Averaged 26.200-26.210 (4641-4643) BasePeak: 68.05 (40100)

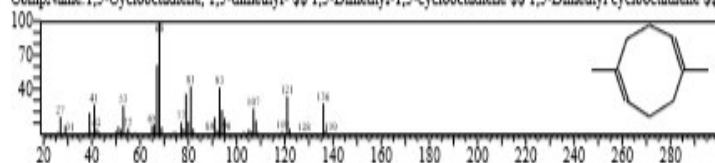
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 6784 Library: NIST14a.lib

SI: 77 Formula: C10H16 CAS: 3760-14-3 MolWeight: 136 RefIndex: 1103

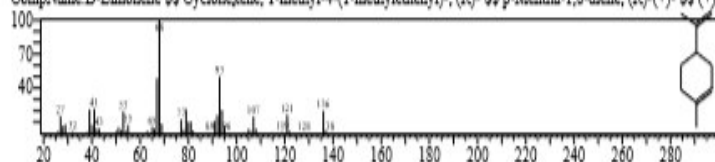
CompName: 1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl- $\text{\$ \$}$ 1,5-Dimethyl-1,5-cyclooctadiene $\text{\$ \$}$ 1,5-Dimethyl cyclooctadiene $\text{\$ \$}$



Hit# 2 Entry: 6792 Library: NIST14a.lib

SI: 75 Formula: C10H16 CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RefIndex: 1018

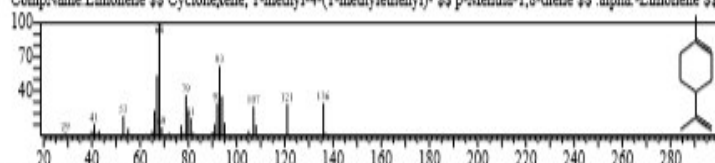
CompName: D-Limonene $\text{\$ \$}$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- $\text{\$ \$}$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- $\text{\$ \$}$ (+)-



Hit# 3 Entry: 6790 Library: NIST14a.lib

SI: 75 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RefIndex: 1018

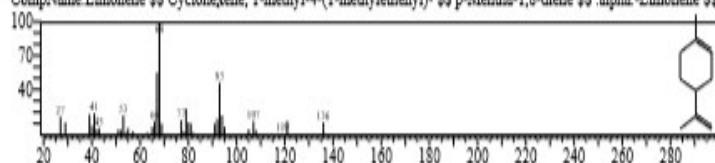
CompName: Limonene $\text{\$ \$}$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- $\text{\$ \$}$ p-Mentha-1,8-diene $\text{\$ \$}$ alpha-Limonene $\text{\$ \$}$



Hit# 4 Entry: 6785 Library: NIST14a.lib

SI: 74 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RefIndex: 1018

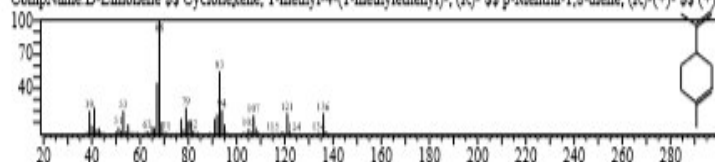
CompName: Limonene $\text{\$ \$}$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- $\text{\$ \$}$ p-Mentha-1,8-diene $\text{\$ \$}$ alpha-Limonene $\text{\$ \$}$



Hit# 5 Entry: 6791 Library: NIST14a.lib

SI: 73 Formula: C10H16 CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RefIndex: 1018

CompName: D-Limonene $\text{\$ \$}$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- $\text{\$ \$}$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- $\text{\$ \$}$ (+)-

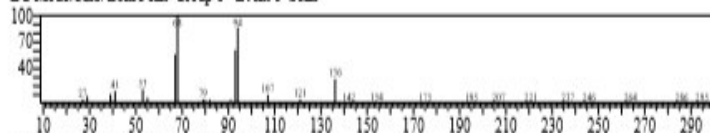


<< Target >>

Line# 13 R.Time: 26.245(Scan# 4650) MassPeaks: 137

RawMode: Averaged 26.240-26.250(4649-4651) BasePeak: 68.05(45599)

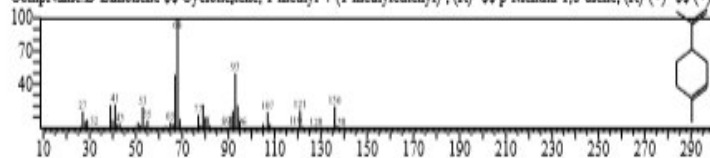
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 6792 Library: NIST14a.lib

SI: 52 Formula: C10H16 CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

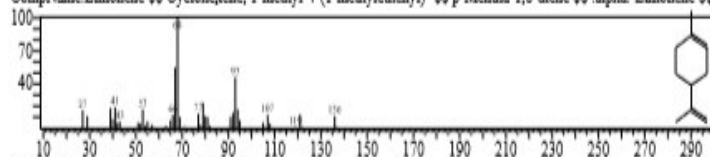
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#2 Entry: 6785 Library: NIST14a.lib

SI: 80 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

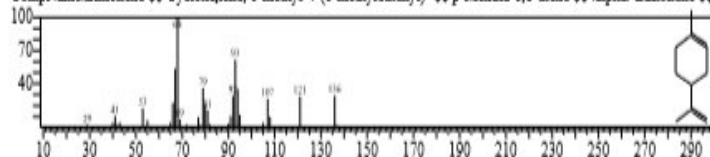
CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit#3 Entry: 6790 Library: NIST14a.lib

SI: 79 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

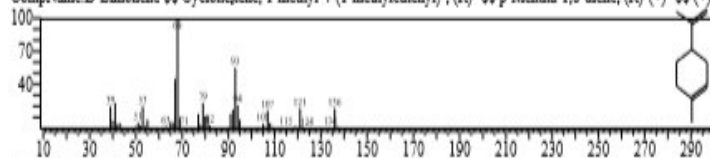
CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit#4 Entry: 6791 Library: NIST14a.lib

SI: 79 Formula: C10H16 CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

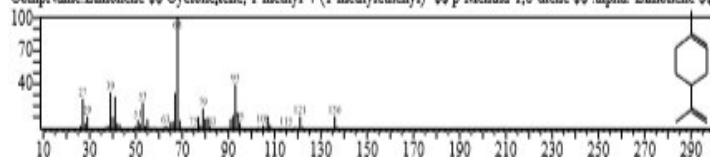
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#5 Entry: 6789 Library: NIST14a.lib

SI: 79 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$

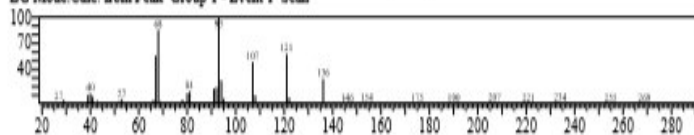


<< Target >>

Line# 14 R Time: 26.310 (Scan# 4663) Mass Peaks: 144

Raw Mode: Averaged 26.305-26.315 (4662-4664) Base Peak: 93.05 (40330)

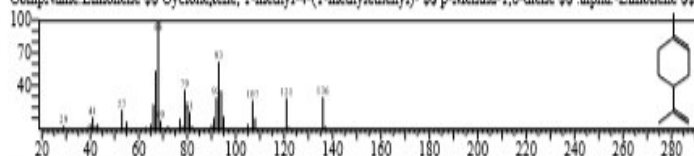
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 6790 Library: NIST14a.lib

SI: 83 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

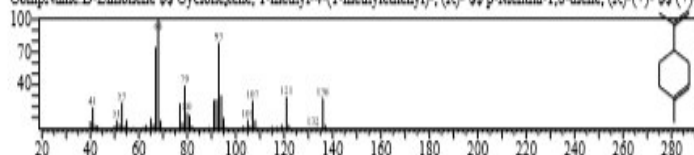
CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit#2 Entry: 6793 Library: NIST14a.lib

SI: 83 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

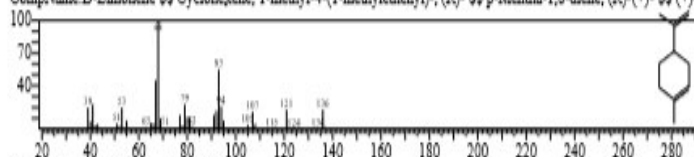
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#3 Entry: 6791 Library: NIST14a.lib

SI: 82 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

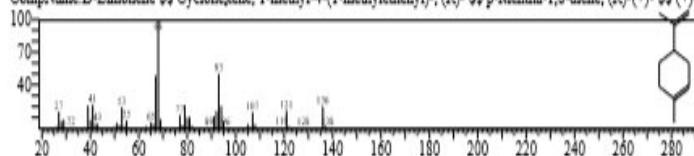
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#4 Entry: 6792 Library: NIST14a.lib

SI: 82 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

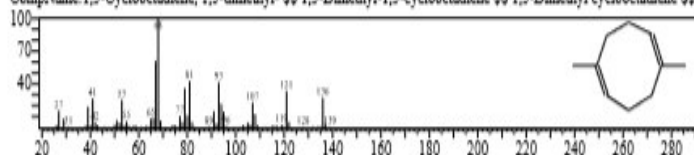
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#5 Entry: 6784 Library: NIST14a.lib

SI: 81 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 3760-14-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1103

CompName: 1,5-Cyclooctadiene, 1,5-dimethyl- \$\$ 1,5-Dimethyl-1,5-cyclooctadiene \$\$ 1,5-Dimethyl cyclooctadiene \$\$

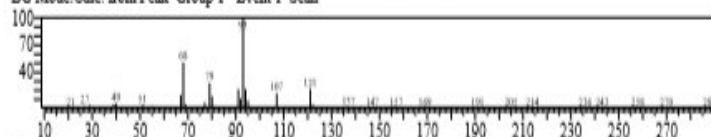


<< Target >>

Line#15 R.Time:26.375(Scan#4676) MassPeaks:149

RawMode:Averaged 26.370-26.380(4675-4677) BasePeak:93.05(105340)

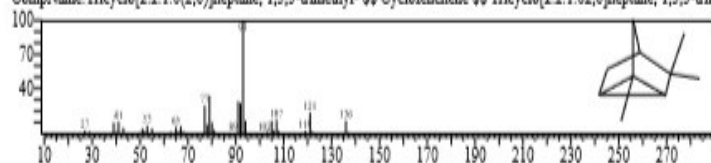
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:6828 Library:NIST14s.lib

SI:83 Formula:C10H16 CAS:488-97-1 MolWeight:136 RetIndex:729

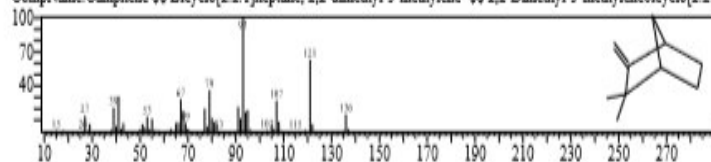
CompName:Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ Cyclofenchene \$\$ Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-



Hit#2 Entry:6853 Library:NIST14s.lib

SI:82 Formula:C10H16 CAS:79-92-5 MolWeight:136 RetIndex:943

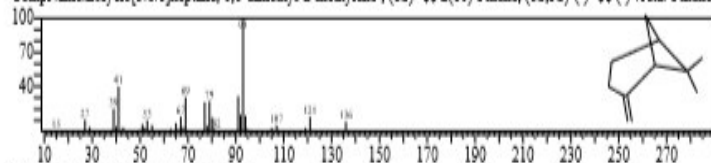
CompName:Camphene \$\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- \$\$ 2,2-Dimethyl-3-methylenebicyclo[2.2.1]heptane



Hit#3 Entry:6816 Library:NIST14s.lib

SI:82 Formula:C10H16 CAS:18172-67-3 MolWeight:136 RetIndex:943

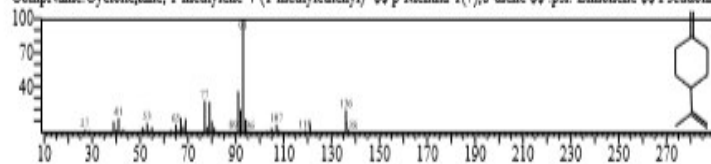
CompName:Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)- \$\$ 2(10)-Pinene, (1S,5S)-(-)- \$\$ (-)-beta-Pinene



Hit#4 Entry:6833 Library:NIST14s.lib

SI:82 Formula:C10H16 CAS:499-97-8 MolWeight:136 RetIndex:1013

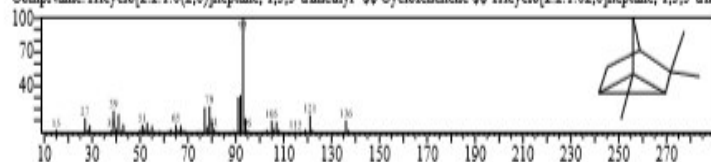
CompName:Cyclohexane, 1-methylene-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1(7),8-diene \$\$ psi-Limonene \$\$ Pseudolimonene



Hit#5 Entry:6848 Library:NIST14s.lib

SI:82 Formula:C10H16 CAS:488-97-1 MolWeight:136 RetIndex:729

CompName:Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ Cyclofenchene \$\$ Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-

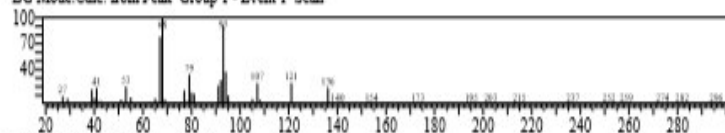


<< Target >>

Line#16 R.Time:26.420(Scan#4685) MassPeak:196

RawMode:Averaged 26.415-26.425(4684-4686) BasePeak:69.05(696571)

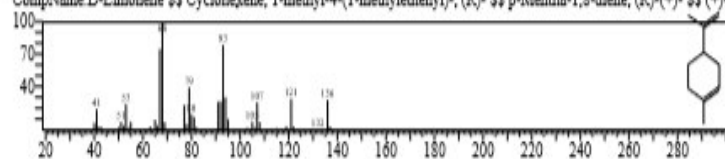
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:6793 Library:NIST14a.lib

SI:94 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RefIndex:1018

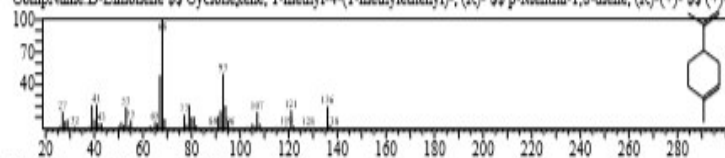
CompName D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#2 Entry:6792 Library:NIST14a.lib

SI:92 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RefIndex:1018

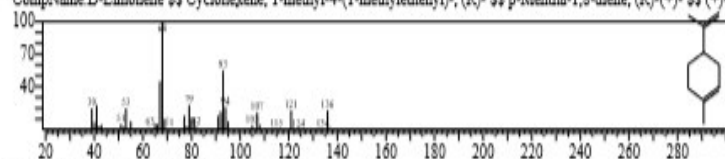
CompName D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#3 Entry:6791 Library:NIST14a.lib

SI:91 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RefIndex:1018

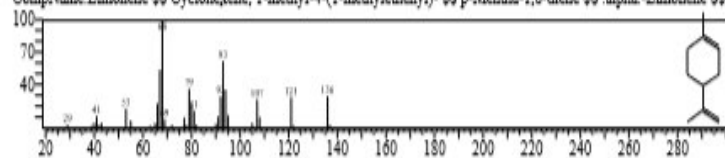
CompName D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#4 Entry:6790 Library:NIST14a.lib

SI:90 Formula:C10H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RefIndex:1018

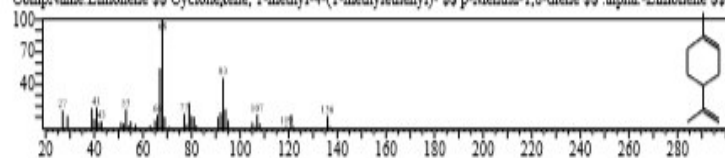
CompName Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit#5 Entry:6785 Library:NIST14a.lib

SI:90 Formula:C10H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RefIndex:1018

CompName Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



<< Target >>

Line#17 R.Time:33.620(Scan#6125) MassPeaks:153

RawMode:Averaged 33.615-33.625(6124-6126) BasePeak:79.05(19469)

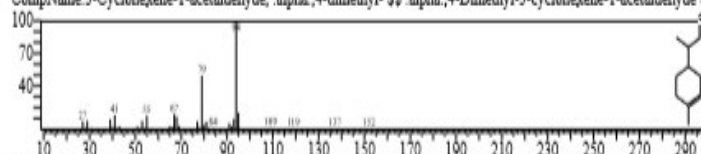
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:9882 Library:NIST14a.lib

SI:76 Formula:C10H16O CAS:29548-14-9 MolWeight:152 RetIndex:1175

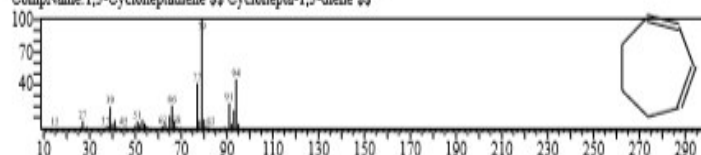
CompName:3-Cyclohexene-1-acetaldehyde, alpha,4-dimethyl- α ,4-Dimethyl-3-cyclohexene-1-acetaldehyde



Hit#2 Entry:1352 Library:NIST14a.lib

SI:76 Formula:C7H10 CAS:4054-38-0 MolWeight:94 RetIndex:804

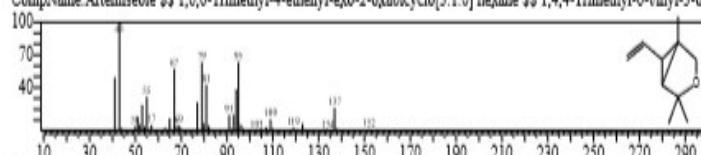
CompName:1,3-Cycloheptadiene 1,3-Cyclohepta-1,3-diene



Hit#3 Entry:9796 Library:NIST14a.lib

SI:76 Formula:C10H16O CAS:60485-46-3 MolWeight:152 RetIndex:969

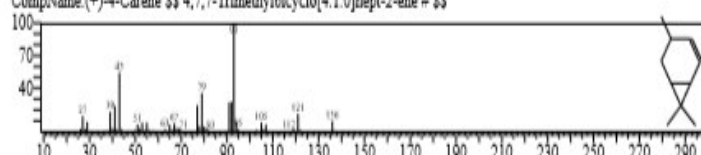
CompName:Artemiseole 1,6,6-Trimethyl-4-ethenyl-exo-2-oxabicyclo[3.1.0]hexane 1,4,4-Trimethyl-6-vinyl-3-ox-



Hit#4 Entry:6819 Library:NIST14a.lib

SI:76 Formula:C10H16 CAS:29050-33-7 MolWeight:136 RetIndex:919

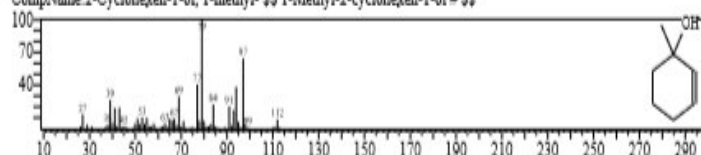
CompName:(+)-4-Carene 4,7,7-Trimethylbicyclo[4.1.0]hept-2-ene



Hit#5 Entry:3045 Library:NIST14a.lib

SI:76 Formula:C7H12O CAS:23758-27-2 MolWeight:112 RetIndex:913

CompName:2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl- 1-Methyl-2-cyclohexen-1-ol

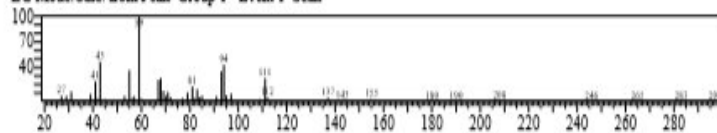


<< Target >>

Line# 18 R.Time:33.950(Scan# 6191) MassPeaks:170

RawMode:Averaged 33.945-33.955(6190-6192) BasePeak:59.05(47963)

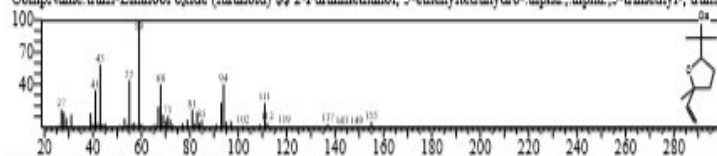
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:13271 Library:NIST14s.lib

SI:94 Formula:C10H18O2 CAS:34995-77-2 MolWeight:170 RetIndex:1164

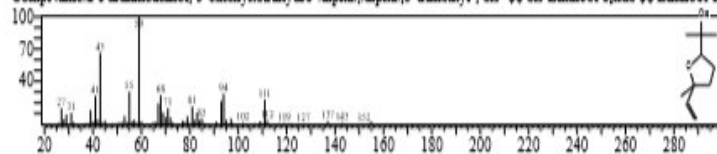
CompName:trans-Linalool oxide (furanoid) \$\$ 2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- α -, α -,5-trimethyl-, trans-



Hit#2 Entry:13272 Library:NIST14s.lib

SI:93 Formula:C10H18O2 CAS:5989-33-3 MolWeight:170 RetIndex:1164

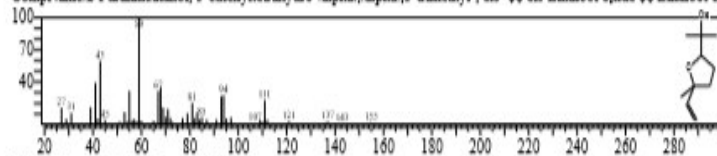
CompName:2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- α -, α -,5-trimethyl-, cis- \$\$ cis-Linalool oxide \$\$ Linalool ox



Hit#3 Entry:13269 Library:NIST14s.lib

SI:92 Formula:C10H18O2 CAS:5989-33-3 MolWeight:170 RetIndex:1164

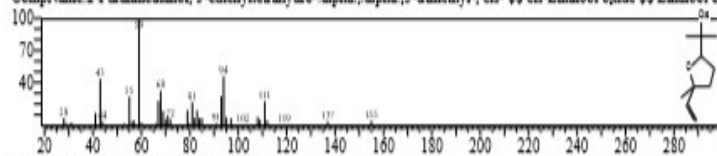
CompName:2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- α -, α -,5-trimethyl-, cis- \$\$ cis-Linalool oxide \$\$ Linalool ox



Hit#4 Entry:13274 Library:NIST14s.lib

SI:91 Formula:C10H18O2 CAS:5989-33-3 MolWeight:170 RetIndex:1164

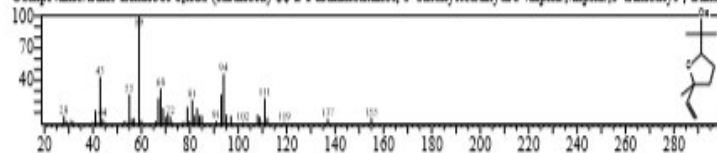
CompName:2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- α -, α -,5-trimethyl-, cis- \$\$ cis-Linalool oxide \$\$ Linalool ox



Hit#5 Entry:13273 Library:NIST14s.lib

SI:91 Formula:C10H18O2 CAS:34995-77-2 MolWeight:170 RetIndex:1164

CompName:trans-Linalool oxide (furanoid) \$\$ 2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- α -, α -,5-trimethyl-, trans-

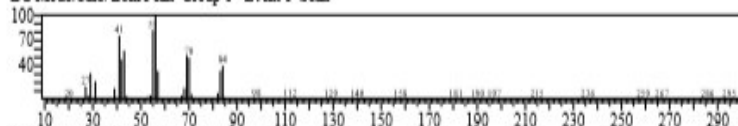


<< Target >>

Line#: 19 RTime: 34.835 (Scan#: 6368) MassPeak: 179

RawMode: Averaged 34.830-34.840 (6367-6369) BasePeak: 56.05 (200204)

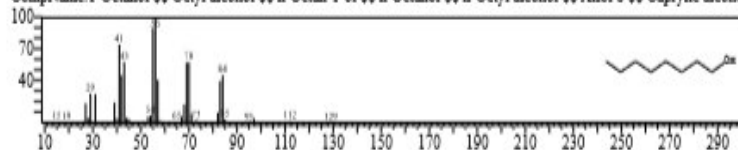
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 5758 Library: NIST14a.lib

SI: 97 Formula: C₈H₁₈O CAS: 111-87-5 MolWeight: 130 RetIndex: 1059

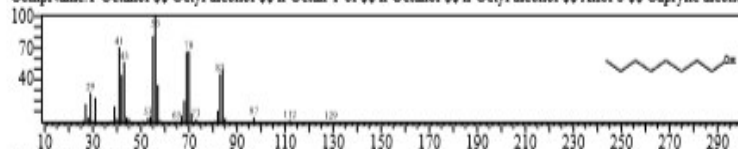
CompName: 1-Octanol \$\$ Octyl alcohol \$\$ n-Octan-1-ol \$\$ n-Octanol \$\$ n-Octyl alcohol \$\$ Alfol 8 \$\$ Caprylic alcohol



Hit#2 Entry: 5757 Library: NIST14a.lib

SI: 97 Formula: C₈H₁₈O CAS: 111-87-5 MolWeight: 130 RetIndex: 1059

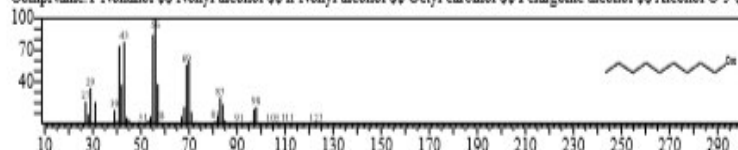
CompName: 1-Octanol \$\$ Octyl alcohol \$\$ n-Octan-1-ol \$\$ n-Octanol \$\$ n-Octyl alcohol \$\$ Alfol 8 \$\$ Caprylic alcohol



Hit#3 Entry: 8255 Library: NIST14a.lib

SI: 95 Formula: C₉H₂₀O CAS: 143-08-8 MolWeight: 144 RetIndex: 1159

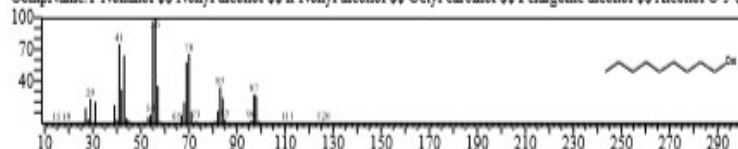
CompName: 1-Nonanol \$\$ Nonyl alcohol \$\$ n-Nonyl alcohol \$\$ Octyl carbinol \$\$ Pelargonic alcohol \$\$ Alcohol C-9 \$



Hit#4 Entry: 8254 Library: NIST14a.lib

SI: 94 Formula: C₉H₂₀O CAS: 143-08-8 MolWeight: 144 RetIndex: 1159

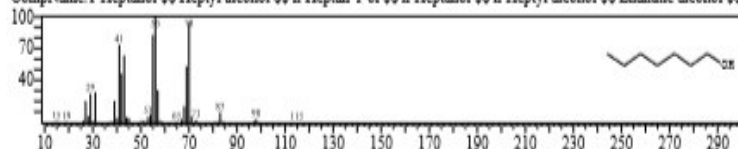
CompName: 1-Nonanol \$\$ Nonyl alcohol \$\$ n-Nonyl alcohol \$\$ Octyl carbinol \$\$ Pelargonic alcohol \$\$ Alcohol C-9 \$



Hit#5 Entry: 3765 Library: NIST14a.lib

SI: 94 Formula: C₇H₁₆O CAS: 111-70-6 MolWeight: 116 RetIndex: 960

CompName: 1-Heptanol \$\$ Heptyl alcohol \$\$ n-Heptan-1-ol \$\$ n-Heptanol \$\$ n-Heptyl alcohol \$\$ Enanthic alcohol \$

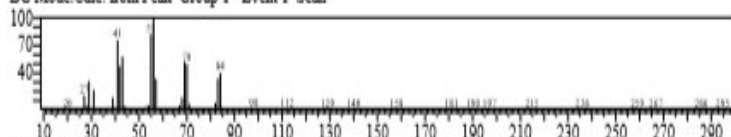


<< Target >>

Line#19 R.Time:34.835(Scan#6368) MassPeaks:179

RawMode:Averaged 34.830-34.840(6367-6369) BasePeak:56.05(200204)

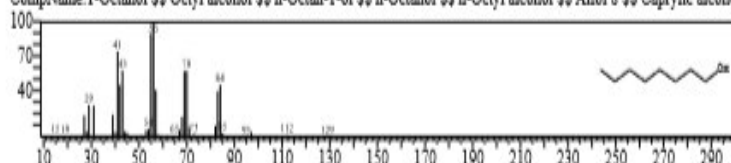
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:5758 Library:NIST14a.lib

SI:97 Formula:C8H18O CAS:111-87-5 MolWeight:130 RetIndex:1059

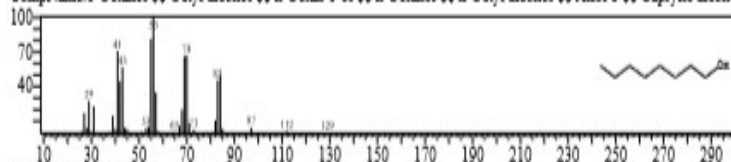
CompName:1-Octanol \$\$ Octyl alcohol \$\$ n-Octan-1-ol \$\$ n-Octanol \$\$ n-Octyl alcohol \$\$ Alfol 8 \$\$ Caprylic alcohol



Hit#2 Entry:5757 Library:NIST14a.lib

SI:97 Formula:C8H18O CAS:111-87-5 MolWeight:130 RetIndex:1059

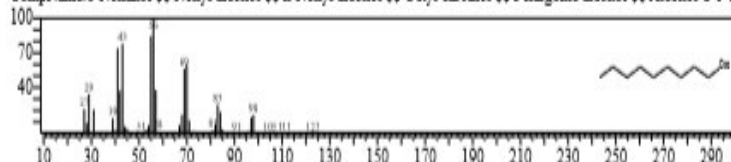
CompName:1-Octanol \$\$ Octyl alcohol \$\$ n-Octan-1-ol \$\$ n-Octanol \$\$ n-Octyl alcohol \$\$ Alfol 8 \$\$ Caprylic alcohol



Hit#3 Entry:8255 Library:NIST14a.lib

SI:95 Formula:C9H20O CAS:143-08-8 MolWeight:144 RetIndex:1159

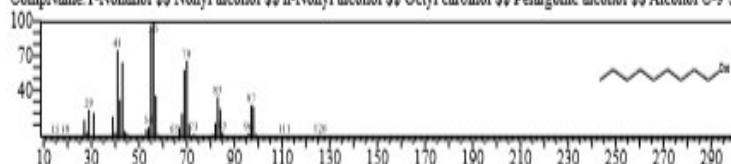
CompName:1-Nonanol \$\$ Nonyl alcohol \$\$ n-Nonyl alcohol \$\$ Octyl carbinol \$\$ Pelargonic alcohol \$\$ Alcohol C-9 \$



Hit#4 Entry:8254 Library:NIST14a.lib

SI:94 Formula:C9H20O CAS:143-08-8 MolWeight:144 RetIndex:1159

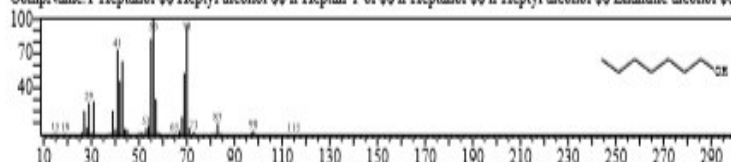
CompName:1-Nonanol \$\$ Nonyl alcohol \$\$ n-Nonyl alcohol \$\$ Octyl carbinol \$\$ Pelargonic alcohol \$\$ Alcohol C-9 \$



Hit#5 Entry:3765 Library:NIST14a.lib

SI:94 Formula:C7H16O CAS:111-70-6 MolWeight:116 RetIndex:960

CompName:1-Heptanol \$\$ Heptyl alcohol \$\$ n-Heptan-1-ol \$\$ n-Heptanol \$\$ n-Heptyl alcohol \$\$ Enanthic alcohol \$

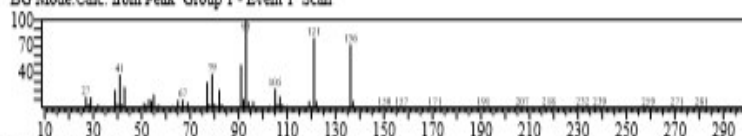


<< Target >>

Line# 20 R.Time: 35.985 (Scan# 6598) MassPeaks: 164

RawMode: Averaged 35.980-35.990 (6597-6599) BasePeak: 93.05 (8492)

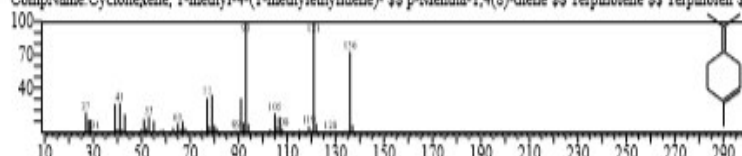
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 6866 Library: NIST14a.lib

SI: 90 Formula: C10H16 CAS: 586-62-9 MolWeight: 136 RetIndex: 1052

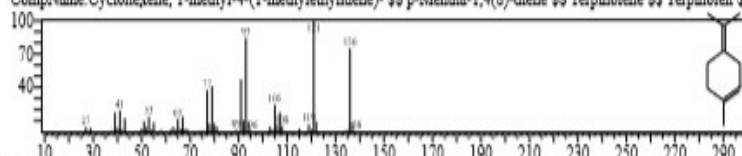
CompName: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- \$\$ p-Mentha-1,4(8)-diene \$\$ Terpinolene \$\$ Terpinolen \$\$



Hit# 2 Entry: 6867 Library: NIST14a.lib

SI: 90 Formula: C10H16 CAS: 586-62-9 MolWeight: 136 RetIndex: 1052

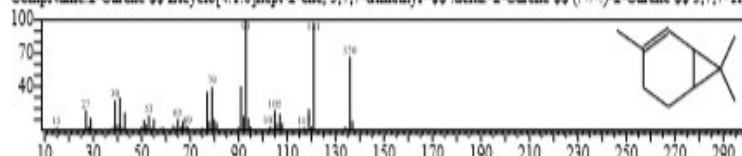
CompName: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- \$\$ p-Mentha-1,4(8)-diene \$\$ Terpinolene \$\$ Terpinolen \$\$



Hit# 3 Entry: 6859 Library: NIST14a.lib

SI: 89 Formula: C10H16 CAS: 554-61-0 MolWeight: 136 RetIndex: 948

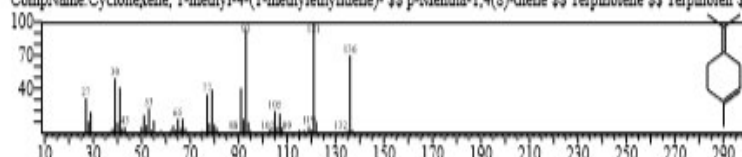
CompName: 2-Carene \$\$ Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene, 3,7,7-trimethyl- \$\$ delta-2-Carene \$\$ (+)-2-Carene \$\$ 3,7,7-Tr



Hit# 4 Entry: 6865 Library: NIST14a.lib

SI: 88 Formula: C10H16 CAS: 586-62-9 MolWeight: 136 RetIndex: 1052

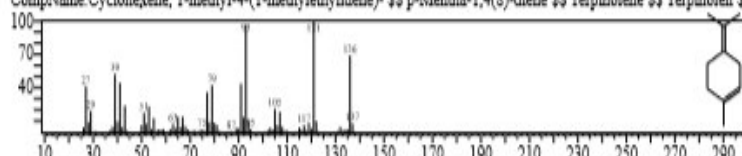
CompName: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- \$\$ p-Mentha-1,4(8)-diene \$\$ Terpinolene \$\$ Terpinolen \$\$



Hit# 5 Entry: 6864 Library: NIST14a.lib

SI: 88 Formula: C10H16 CAS: 586-62-9 MolWeight: 136 RetIndex: 1052

CompName: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- \$\$ p-Mentha-1,4(8)-diene \$\$ Terpinolene \$\$ Terpinolen \$\$

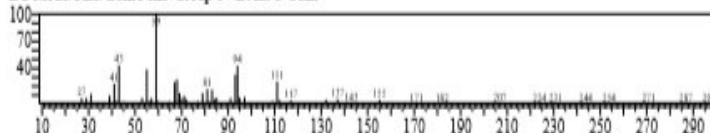


<< Target >>

Line# 21 R Time: 36.210 (Scan# 6643) Mass Peaks: 174

Raw Mode: Averaged 36.205-36.215 (6642-6644) Base Peak: 59.00 (34474)

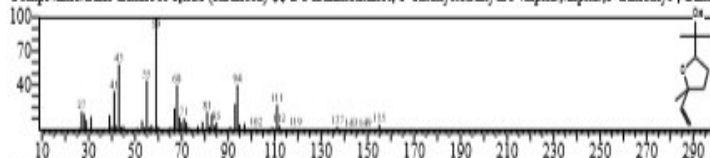
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 13271 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C10H18O2 CAS: 34995-77-2 MolWeight: 170 RetIndex: 1164

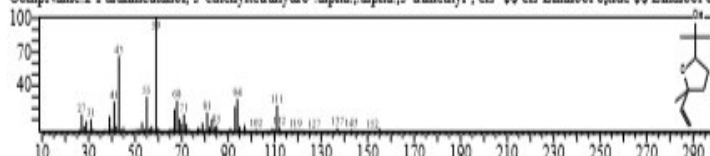
CompName: trans-Linalool oxide (furanoid) \$ 2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- α , α , 5-trimethyl-, trans-



Hit# 2 Entry: 13272 Library: NIST14s.lib

SI: 92 Formula: C10H18O2 CAS: 5989-33-3 MolWeight: 170 RetIndex: 1164

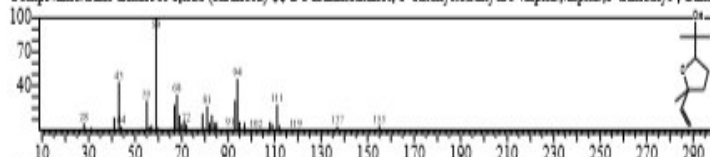
CompName: 2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- α , α , 5-trimethyl-, cis- \$ cis-Linalool oxide \$ Linalool ox



Hit# 3 Entry: 13273 Library: NIST14s.lib

SI: 91 Formula: C10H18O2 CAS: 34995-77-2 MolWeight: 170 RetIndex: 1164

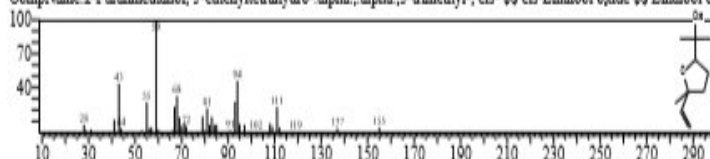
CompName: trans-Linalool oxide (furanoid) \$ 2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- α , α , 5-trimethyl-, trans-



Hit# 4 Entry: 13274 Library: NIST14s.lib

SI: 91 Formula: C10H18O2 CAS: 5989-33-3 MolWeight: 170 RetIndex: 1164

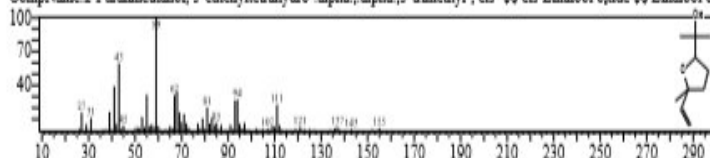
CompName: 2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- α , α , 5-trimethyl-, cis- \$ cis-Linalool oxide \$ Linalool ox



Hit# 5 Entry: 13269 Library: NIST14s.lib

SI: 91 Formula: C10H18O2 CAS: 5989-33-3 MolWeight: 170 RetIndex: 1164

CompName: 2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- α , α , 5-trimethyl-, cis- \$ cis-Linalool oxide \$ Linalool ox

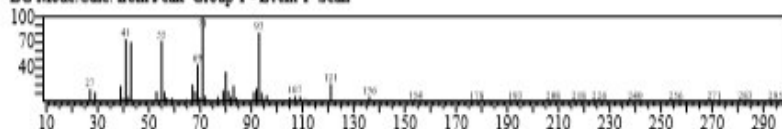


<< Target >>

Line# 22 R.Time: 37.985(Scan# 6998) MassPeaks: 205

RawMode: Averaged 37.980-37.990(6997-6999) BasePeak: 71.00(147480)

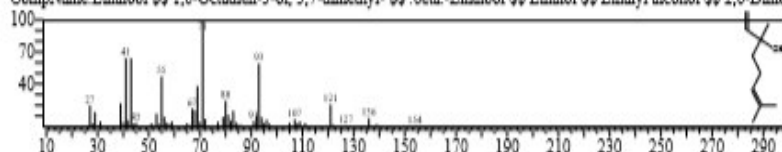
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 10353 Library: NIST14s.lib

SI: 95 Formula: C10H18O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 1082

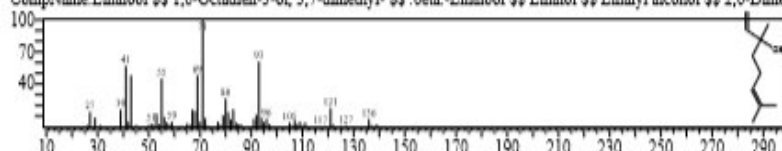
CompName: Linalool \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$\$.beta.-Linalool \$\$ Linalol \$\$ Linalyl alcohol \$\$ 2,6-Dimet



Hit#2 Entry: 10359 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C10H18O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 1082

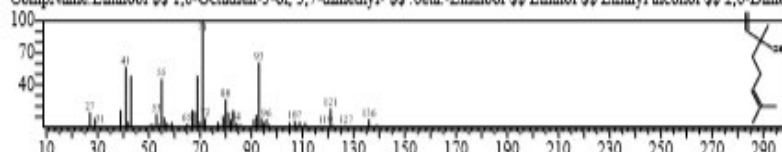
CompName: Linalool \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$\$.beta.-Linalool \$\$ Linalol \$\$ Linalyl alcohol \$\$ 2,6-Dimet



Hit#3 Entry: 10360 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C10H18O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 1082

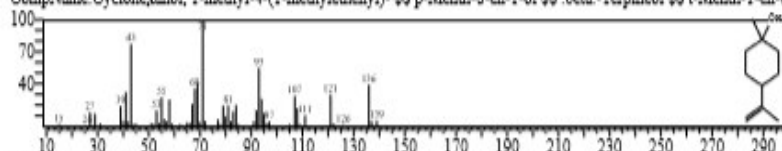
CompName: Linalool \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$\$.beta.-Linalool \$\$ Linalol \$\$ Linalyl alcohol \$\$ 2,6-Dimet



Hit#4 Entry: 10356 Library: NIST14s.lib

SI: 87 Formula: C10H18O CAS: 138-87-4 MolWeight: 154 RetIndex: 1158

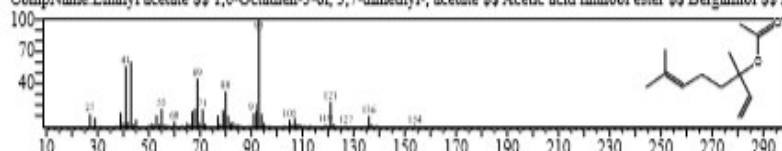
CompName: Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Menth-8-en-1-ol \$\$.beta.-Terpineol \$\$ t-Menth-1-en-8-



Hit#5 Entry: 17803 Library: NIST14s.lib

SI: 86 Formula: C12H20O2 CAS: 115-95-7 MolWeight: 196 RetIndex: 1272

CompName: Linalyl acetate \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, acetate \$\$ Acetic acid linalool ester \$\$ Bergamitol \$\$ B

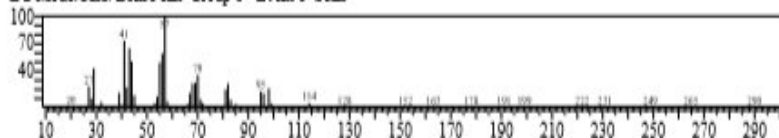


<< Target >>

Line# 23 R.Time: 38.490 (Scan#: 7099) MassPeaks: 159

RawMode: Averaged 38.485-38.495 (7098-7100) BasePeak: 57.05 (6128)

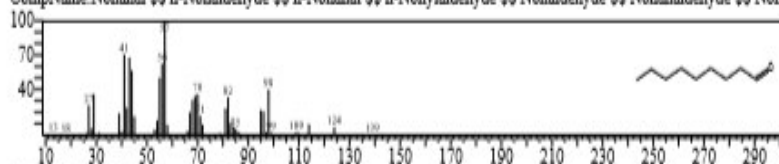
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 7876 Library: NIST14s.lib

SI: 95 Formula: C9H18O CAS: 124-19-6 MolWeight: 142 RetIndex: 1104

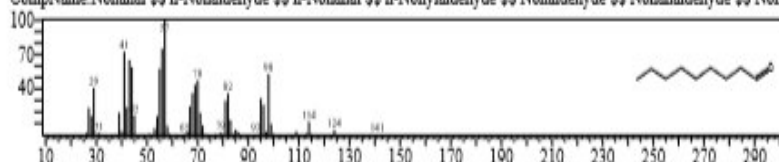
CompName: Nonanal \$\$ n-Nonaldehyde \$\$ n-Nonanal \$\$ n-Nonylaldehyde \$\$ Nonaldehyde \$\$ Nonanaldehyde \$\$ Non



Hit#2 Entry: 7887 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C9H18O CAS: 124-19-6 MolWeight: 142 RetIndex: 1104

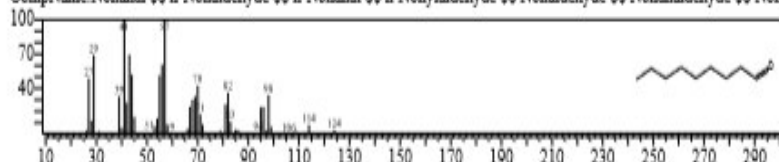
CompName: Nonanal \$\$ n-Nonaldehyde \$\$ n-Nonanal \$\$ n-Nonylaldehyde \$\$ Nonaldehyde \$\$ Nonanaldehyde \$\$ Non



Hit#3 Entry: 7858 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C9H18O CAS: 124-19-6 MolWeight: 142 RetIndex: 1104

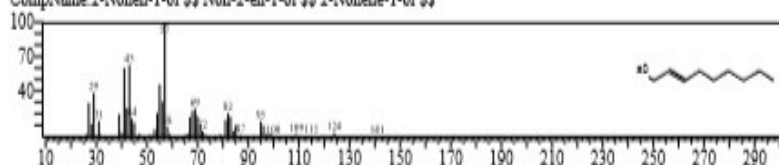
CompName: Nonanal \$\$ n-Nonaldehyde \$\$ n-Nonanal \$\$ n-Nonylaldehyde \$\$ Nonaldehyde \$\$ Nonanaldehyde \$\$ Non



Hit#4 Entry: 7885 Library: NIST14s.lib

SI: 91 Formula: C9H18O CAS: 22104-79-6 MolWeight: 142 RetIndex: 1167

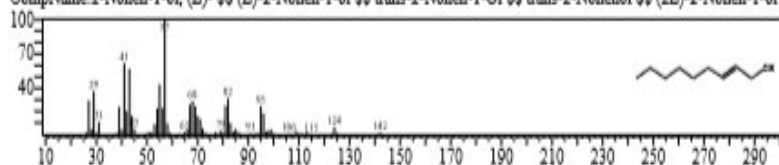
CompName: 2-Nonen-1-ol \$\$ Non-2-en-1-ol \$\$ 2-Nonene-1-ol \$\$



Hit#5 Entry: 7877 Library: NIST14s.lib

SI: 91 Formula: C9H18O CAS: 31502-14-4 MolWeight: 142 RetIndex: 1167

CompName: 2-Nonen-1-ol, (E)- \$\$ (E)-2-Nonen-1-ol \$\$ trans-2-Nonen-1-ol \$\$ trans-2-Nonenol \$\$ (2E)-2-Nonen-1-ol

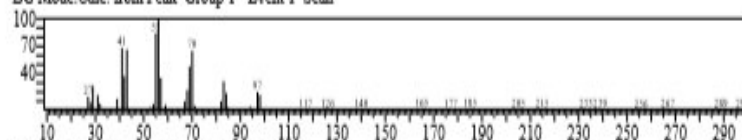


<< Target >>

Line# 25 R.Time: 44.520 (Scan# 8305) MassPeaks: 175

RawMode: Averaged 44.515-44.525 (8304-8306) BasePeak: 56.05 (5415)

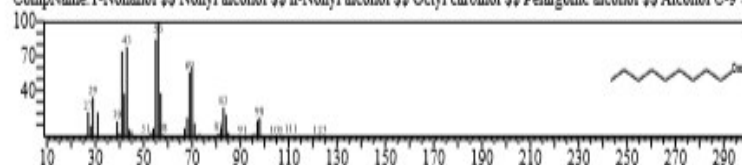
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 8255 Library: NIST14a.lib

SI: 95 Formula: C₉H₂₀O CAS: 143-08-8 MolWeight: 144 RetIndex: 1159

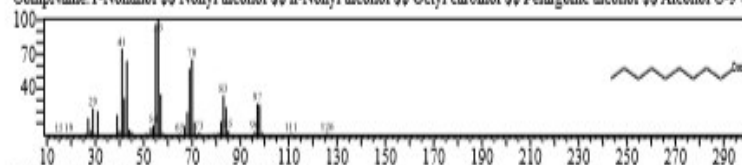
CompName: 1-Nonanol \$\$ Nonyl alcohol \$\$ n-Nonyl alcohol \$\$ Octyl carbinol \$\$ Pelargonic alcohol \$\$ Alcohol C-9 \$



Hit#2 Entry: 8254 Library: NIST14a.lib

SI: 95 Formula: C₉H₂₀O CAS: 143-08-8 MolWeight: 144 RetIndex: 1159

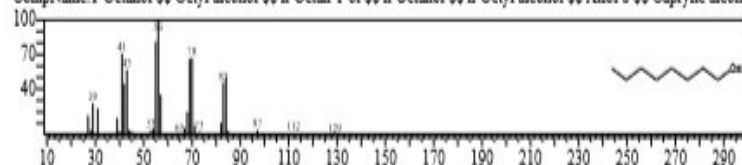
CompName: 1-Nonanol \$\$ Nonyl alcohol \$\$ n-Nonyl alcohol \$\$ Octyl carbinol \$\$ Pelargonic alcohol \$\$ Alcohol C-9 \$



Hit#3 Entry: 5757 Library: NIST14a.lib

SI: 93 Formula: C₈H₁₈O CAS: 111-87-5 MolWeight: 130 RetIndex: 1059

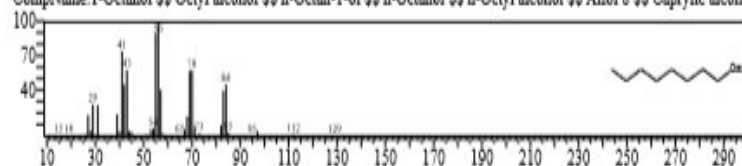
CompName: 1-Octanol \$\$ Octyl alcohol \$\$ n-Octan-1-ol \$\$ n-Octanol \$\$ n-Octyl alcohol \$\$ Alfol 8 \$\$ Caprylic alcohol



Hit#4 Entry: 5758 Library: NIST14a.lib

SI: 93 Formula: C₈H₁₈O CAS: 111-87-5 MolWeight: 130 RetIndex: 1059

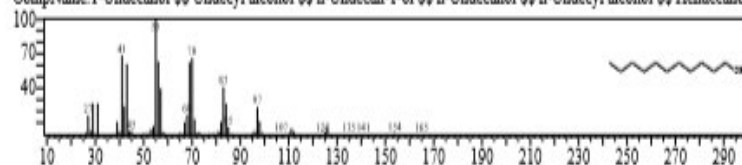
CompName: 1-Octanol \$\$ Octyl alcohol \$\$ n-Octan-1-ol \$\$ n-Octanol \$\$ n-Octyl alcohol \$\$ Alfol 8 \$\$ Caprylic alcohol



Hit#5 Entry: 13723 Library: NIST14a.lib

SI: 92 Formula: C₁₁H₂₄O CAS: 112-42-5 MolWeight: 172 RetIndex: 1357

CompName: 1-Undecanol \$\$ Undecyl alcohol \$\$ n-Undecan-1-ol \$\$ n-Undecanol \$\$ n-Undecyl alcohol \$\$ Hendecanol

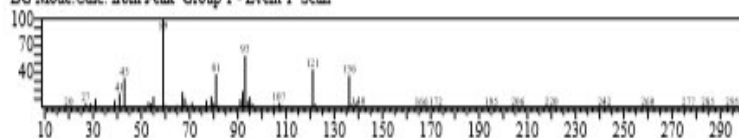


<< Target >>

Line# 26 R Time: 45.415 (Scan# 8484) MassPeaks: 197

RawMode: Averaged 45.410-45.420 (8483-8485) BasePeak: 59.05 (120264)

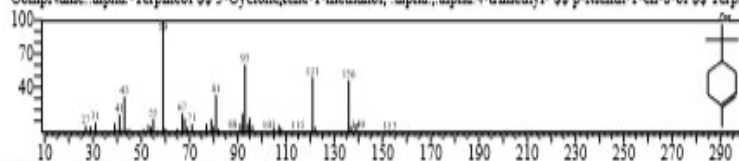
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 10327 Library: NIST14s.lib

SI: 98 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 98-55-5 MolWeight: 154 RetIndex: 1143

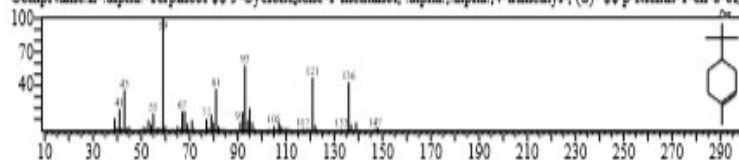
CompName: alpha-Terpineol β -3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha 4-trimethyl- β -p-Menth-1-en-8-ol β -Terpin



Hit#2 Entry: 10326 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 10482-56-1 MolWeight: 154 RetIndex: 1143

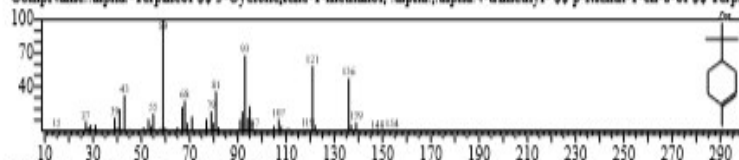
CompName: L-alpha-Terpineol β -3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha 4-trimethyl-, (S)- β -p-Menth-1-en-8-ol, (S)-



Hit#3 Entry: 10328 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 98-55-5 MolWeight: 154 RetIndex: 1143

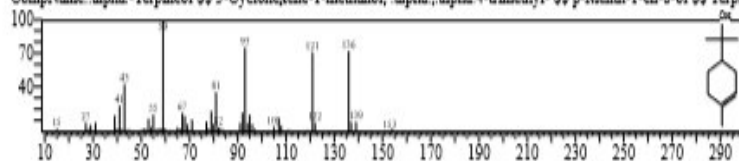
CompName: alpha-Terpineol β -3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha 4-trimethyl- β -p-Menth-1-en-8-ol β -Terpin



Hit#4 Entry: 10329 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 98-55-5 MolWeight: 154 RetIndex: 1143

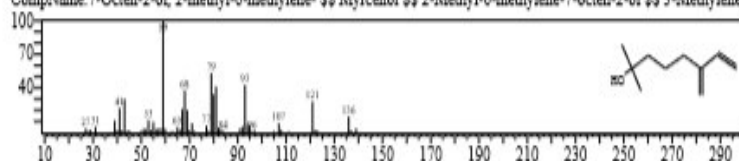
CompName: alpha-Terpineol β -3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha 4-trimethyl- β -p-Menth-1-en-8-ol β -Terpin



Hit#5 Entry: 10325 Library: NIST14s.lib

SI: 88 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 543-39-5 MolWeight: 154 RetIndex: 1064

CompName: 7-Octen-2-ol, 2-methyl-6-methylene- β -Myrcenol β -2-Methyl-6-methylene-7-octen-2-ol β -3-Methylene-

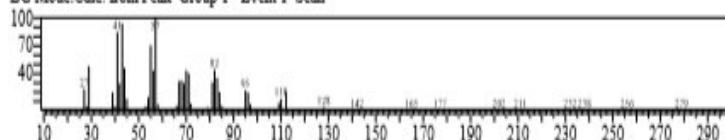


<< Target >>

Line# 27 R.Time: 46.695 (Scan# 8740) MassPeaks: 188

RawMode: Averaged 46.690-46.700 (8739-8741) BasePeak: 57.05 (8261)

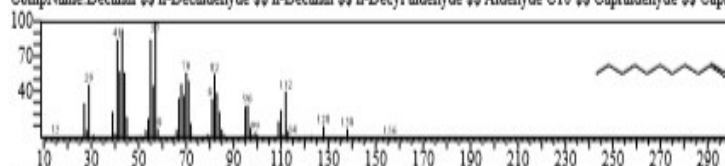
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 10728 Library: NIST14s.lib

SI: 95 Formula: C10H20O CAS: 112-31-2 MolWeight: 156 RetIndex: 1204

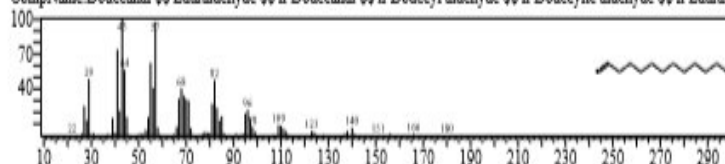
CompName: Decanal \$\$ n-Decaldehyde \$\$ n-Decanal \$\$ n-Decyl aldehyde \$\$ Aldehyde C10 \$\$ Capraldehyde \$\$ Capri



Hit#2 Entry: 15786 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C12H24O CAS: 112-54-9 MolWeight: 184 RetIndex: 1402

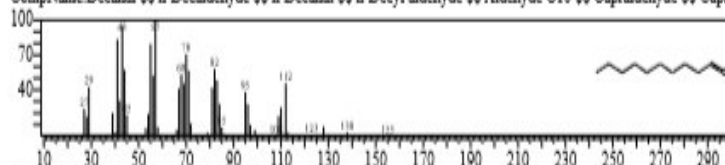
CompName: Dodecanal \$\$ Lauraldehyde \$\$ n-Dodecanal \$\$ n-Dodecyl aldehyde \$\$ n-Dodecyl aldehyde \$\$ n-Laural



Hit#3 Entry: 10729 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C10H20O CAS: 112-31-2 MolWeight: 156 RetIndex: 1204

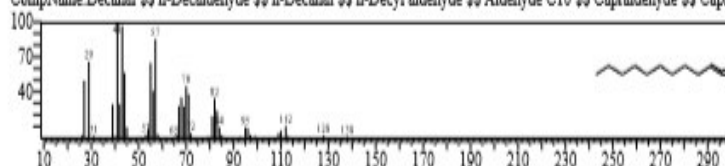
CompName: Decanal \$\$ n-Decaldehyde \$\$ n-Decanal \$\$ n-Decyl aldehyde \$\$ Aldehyde C10 \$\$ Capraldehyde \$\$ Capri



Hit#4 Entry: 10710 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C10H20O CAS: 112-31-2 MolWeight: 156 RetIndex: 1204

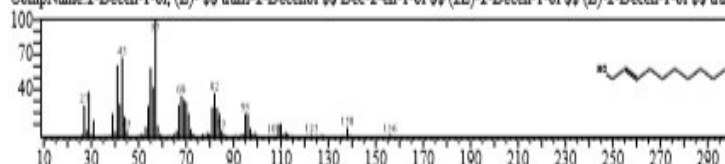
CompName: Decanal \$\$ n-Decaldehyde \$\$ n-Decanal \$\$ n-Decyl aldehyde \$\$ Aldehyde C10 \$\$ Capraldehyde \$\$ Capri




Hit#5 Entry: 10731 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C10H20O CAS: 18409-18-2 MolWeight: 156 RetIndex: 1266


CompName: 2-Decen-1-ol, (E)- \$\$ trans-2-Decenol \$\$ Dec-2-en-1-ol \$\$ (2E)-2-Decen-1-ol \$\$ (E)-2-Decen-1-ol \$\$ tran



ANEXO 4




UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
LABICER (Laboratorio N° 12)
ANÁLISIS QUÍMICO, CONSULTORÍA E INVESTIGACIÓN



INFORME TÉCNICO N° 1274 - 18 - LABICER

1. DATOS DEL SOLICITANTE
 - 1.1 NOMBRES DE LAS SOLICITANTES : KATIA RUBI PORRAS COCHACHI
 - 1.2 DNI : 46431702
2. CRONOGRAMA DE FECHAS
 - 2.1 FECHA DE RECEPCIÓN : 24 / 07 / 2018
 - 2.2 FECHA DE ENSAYO : 25 / 07 / 2018
 - 2.3 FECHA DE EMISIÓN : 01 / 08 / 2018
3. ANÁLISIS SOLICITADO : ANÁLISIS DE ACEITE ESENCIAL *Citrus japonica* Thumb. (Naranja china)
4. DATOS REFERENCIALES DE LA MUESTRA SEGÚN SOLICITANTE
 - 4.1 IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA : 01 MUESTRA DE ACEITE ESENCIAL DE *Citrus japonica* Thumb. (Naranja china)
5. LUGAR DE RECEPCIÓN : LABORATORIO LABICER - FACULTAD DE CIENCIAS
6. CONDICIONES AMBIENTALES : Temperatura: 20,1 °C; Humedad relativa: 65%
7. DOCUMENTO DE REFERENCIA : Bilal Gurbuza, et. al. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) cultivation studies under Ankara ecological conditions. Industrial Crops and Products 88 (2016) 12-16.
8. EQUIPOS UTILIZADOS
 CROMATÓGRAFO DE GASES: SHIMADZU, GC-2010 Plus.
 AUTOMUESTREADOR: SHIMADZU, AOC-6000.
 Detector de espectrometría de masas: SHIMADZU, GCMS-QP210 Ultra.
 COLUMNA GC: RESTEK, RTX-5MS, 30m x 0.25 mm ID x 0.25 µm df. Serial: 1346249.
9. RESULTADOS

MUESTRA	COMPONENTE PRINCIPAL <i>Análisis de Componentes Volátiles - Inyección por Headspace (HS)</i>	MÉTODO UTILIZADO
Aceite esencial de <i>Citrus japonica</i> Thumb. (Naranja china)	 Componente mayoritario: D-Limonene	Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

*Ver en Anexos (Tabla N°1) la lista de compuestos de la muestra, obtenido por el software del equipo GCMSolution de SHIMADZU utilizando la librería NIST.

INFORME TÉCNICO N° 1274-18- LABICER

Página 1 de 4

Av. Túpac Amaru 210 Lima 31, Perú. Teléfono directo LABICER: 382 0500. E-mail: labic@uni.edu.pe

Figura 32. Informe técnico del análisis de Cromatografía de Gases /Espectrometría de Masas para el aceite esencial de *Citrus japonica* L. Thumb. “naranja enana”

10. OBSERVACIÓN

Se encontraron 15 componentes volátiles en la muestra de aceite esencial, siendo los componentes mayoritarios: D-Limonene (93.66 %), beta Myrcene (3.40 %) y alpha Pinene (1.74 %) (Porcentaje relativo calculado de las áreas del cromatograma de la muestra).

11. VALIDEZ DEL INFORME TÉCNICO

Los resultados de este Informe técnico son válido solo para la muestra proporcionada por el solicitante del servicio en las condiciones indicadas del presente Informe técnico.


Bach. Jesús Utano Reyes
Analista
LABICER-UNI



María Achacón de la Cruz
Responsable de Análisis
Jefa de laboratorio
CQP 202

El Laboratorio no se responsabiliza del muestreo ni de la procedencia de la muestra.

ANEXOS

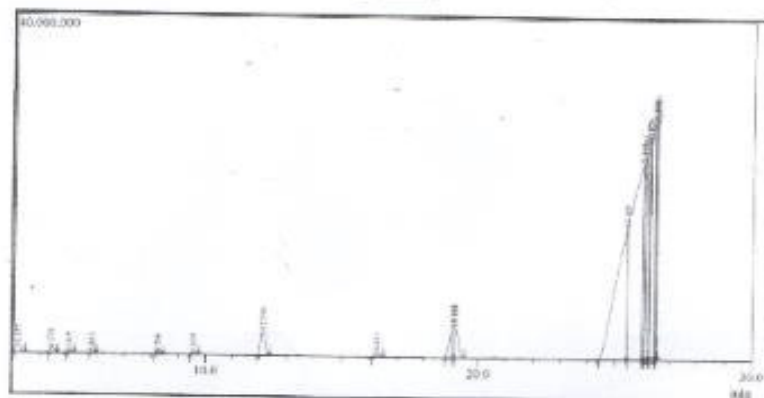


FIGURA N°1: PRIMERA PARTE DEL CROMATOGRAMA DE 3 A 30 MINUTOS

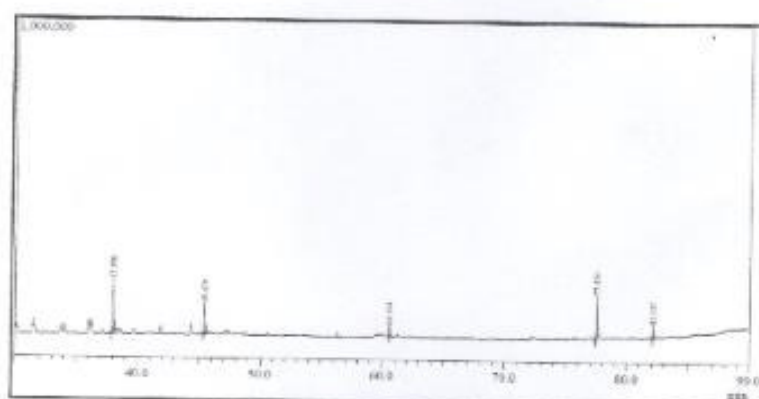


FIGURA N°2: SEGUNDA PARTE DEL CROMATOGRAMA DE 30 A 90 MINUTOS



**TABLA N°1: RESULTADOS DE COMPOSICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE *Citrus japonica* Thumb.
(Naranja china)**

Peak#	R. Time	Area	Area%	Height	Height%	Name
1	3.157	10278908	0.49	937844	0.44	Hexanoic acid, 2-propenyl ester
2	4.370	4750874	0.23	454274	0.22	Isobutyl acetate
3	5.019	1188664	0.06	115782	0.05	Hexane, 2,4-dimethyl-
4	5.851	1338734	0.06	136473	0.06	2(3H)-Furanone, 5-butylidene-4-methyl-, cis-
5	8.256	2025754	0.10	193577	0.09	1-Butanol, 3-methyl-, acetate
6	9.550	1534302	0.07	141021	0.07	Nonane
7	12.096	36237944	1.74	2955475	1.40	alpha-Phene
8	16.271	1942798	0.09	122335	0.06	beta-Phellandrene
9	19.096	37233626	1.79	3610510	1.71	beta-Myrcene
10	19.125	33586597	1.61	3572295	1.69	beta-Myrcene
11	25.405	452945591	21.75	15649566	7.42	D-Limonene
12	25.991	681728333	32.73	22981874	10.89	D-Limonene
13	26.051	91457025	4.39	23948549	11.35	D-Limonene
14	26.185	192839261	9.26	25349473	12.01	beta-Phellandrene
15	26.225	69294937	3.33	25853789	12.25	D-Limonene
16	26.410	290642173	13.95	27921550	13.23	Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-
17	26.449	67284468	3.23	28125285	13.33	D-Limonene
18	26.500	104527877	5.02	28532091	13.52	D-Limonene
19	37.986	958837	0.05	155672	0.07	Linalool
20	45.430	435572	0.02	90248	0.04	alpha-Terpeneol
21	60.594	121279	0.01	31940	0.02	Germaene D
22	77.550	393069	0.02	126439	0.06	Dimethyl palmitamine
23	82.137	96836	0.00	36158	0.02	Damunine
		2082847479	100.00	211042190	100.00	



**FIGURA N°3: FOTOGRAFÍA DEL CROMATOGRÁFO DE GASES ACOPADO
AL ESPECTRÓMETRO DE MASAS**



INFORME TÉCNICO N° 1274-18- LABICER

Página 4 de 4

Av. Túpac Amaru 210 Lima 31, Perú. Teléfono directo LABICER: 382 0500. E-mail: ctilab@unsa.edu.pe

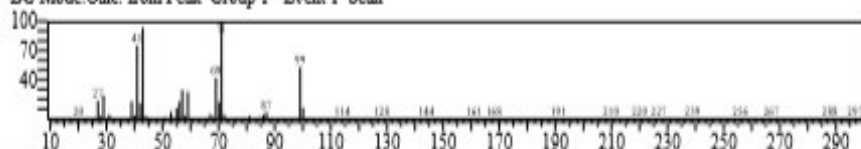
Library

<< Target >>

Line# 1 RTime: 3.155 (Scan# 32) MassPeaks: 168

RawMode: Averaged 3.150-3.160 (31-33) BasePeak: 71.05 (150598)

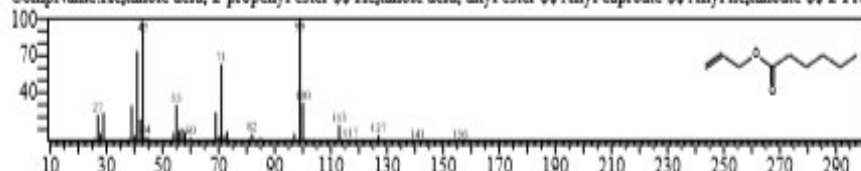
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 10680 Library: NIST14s.lib

SI: 86 Formula: C9H16O2 CAS: 123-68-2 MolWeight: 156 Retindex: 1073

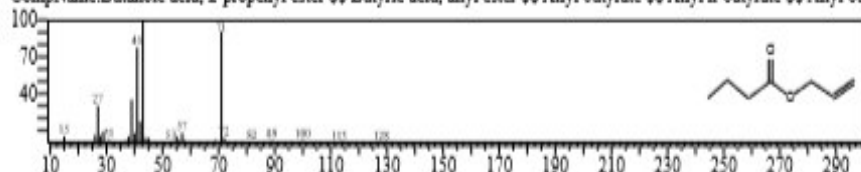
CompName: Hexanoic acid, 2-propenyl ester \$ Hexanoic acid, allyl ester \$ Allyl caproate \$ Allyl hexanoate \$ 2-Pro



Hit#2 Entry: 5221 Library: NIST14s.lib

SI: 85 Formula: C7H12O2 CAS: 2051-78-7 MolWeight: 128 Retindex: 874

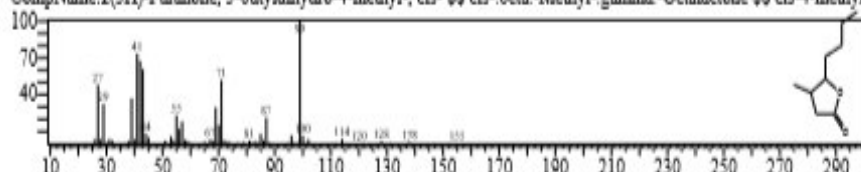
CompName: Butanoic acid, 2-propenyl ester \$ Butyric acid, allyl ester \$ Allyl butyrate \$ Allyl n-butyrate \$ Allyl but



Hit#3 Entry: 10677 Library: NIST14s.lib

SI: 84 Formula: C9H16O2 CAS: 55013-32-6 MolWeight: 156 Retindex: 1245

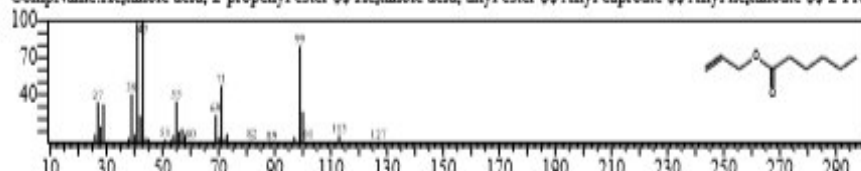
CompName: 2(3H)-Furanone, 5-butyldihydro-4-methyl-, cis- \$ cis-beta-Methyl-gamma-Octalactone \$ cis-4-methyl-



Hit#4 Entry: 10645 Library: NIST14s.lib

SI: 84 Formula: C9H16O2 CAS: 123-68-2 MolWeight: 156 Retindex: 1073

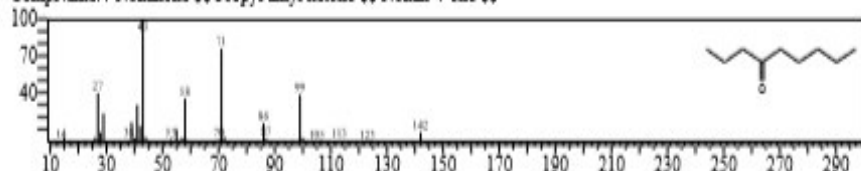
CompName: Hexanoic acid, 2-propenyl ester \$ Hexanoic acid, allyl ester \$ Allyl caproate \$ Allyl hexanoate \$ 2-Pro



Hit#5 Entry: 7866 Library: NIST14s.lib

SI: 83 Formula: C9H18O CAS: 4485-09-0 MolWeight: 142 Retindex: 1052

CompName: 4-Nonanone \$ Propyl amyl ketone \$ Nonan-4-one \$

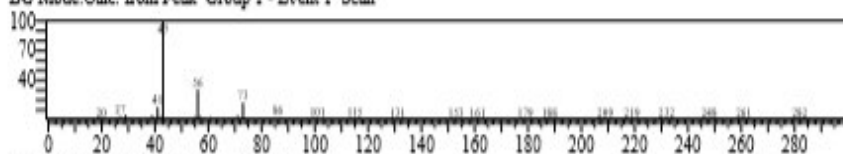


<< Target >>

Line# 2 RTime: 4.370(Scan#: 275) MassPeaks: 149

RawMode: Averaged 4.365-4.375(274-276) BasePeak: 43.00(221557)

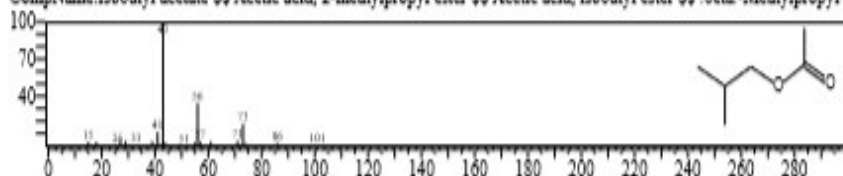
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 3652 Library: NIST14s.lib

SI-98 Formula: C₆H₁₂O₂ CAS: 110-19-0 MolWeight: 116 RetIndex: 721

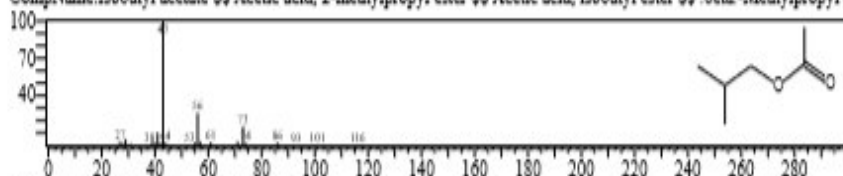
CompName: Isobutyl acetate \$\$ Acetic acid, 2-methylpropyl ester \$\$ Acetic acid, isobutyl ester \$\$.beta.-Methylpropyl e



Hit#2 Entry: 3651 Library: NIST14s.lib

SI-97 Formula: C₆H₁₂O₂ CAS: 110-19-0 MolWeight: 116 RetIndex: 721

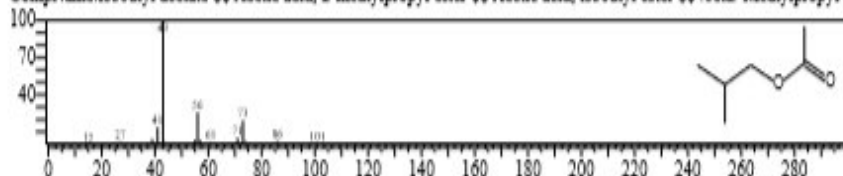
CompName: Isobutyl acetate \$\$ Acetic acid, 2-methylpropyl ester \$\$ Acetic acid, isobutyl ester \$\$.beta.-Methylpropyl e



Hit#3 Entry: 3653 Library: NIST14s.lib

SI-97 Formula: C₆H₁₂O₂ CAS: 110-19-0 MolWeight: 116 RetIndex: 721

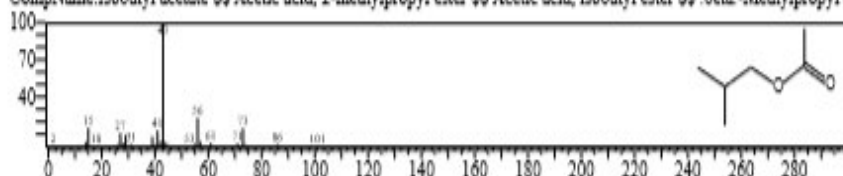
CompName: Isobutyl acetate \$\$ Acetic acid, 2-methylpropyl ester \$\$ Acetic acid, isobutyl ester \$\$.beta.-Methylpropyl e



Hit#4 Entry: 3648 Library: NIST14s.lib

SI-95 Formula: C₆H₁₂O₂ CAS: 110-19-0 MolWeight: 116 RetIndex: 721

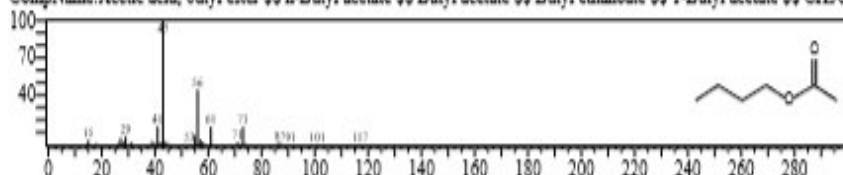
CompName: Isobutyl acetate \$\$ Acetic acid, 2-methylpropyl ester \$\$ Acetic acid, isobutyl ester \$\$.beta.-Methylpropyl e



Hit#5 Entry: 3649 Library: NIST14s.lib

SI-94 Formula: C₆H₁₂O₂ CAS: 123-86-4 MolWeight: 116 RetIndex: 785

CompName: Acetic acid, butyl ester \$\$ n-Butyl acetate \$\$ Butyl acetate \$\$ Butyl ethanoate \$\$ 1-Butyl acetate \$\$ CH₃CO

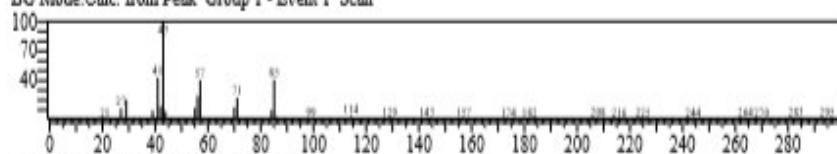


<< Target >>

Line# 3 R.Time: 5.020(Scan#: 405) MassPeaks: 175

RawMode: Averaged 5.015-5.025(404-406) BasePeak: 43.00(28678)

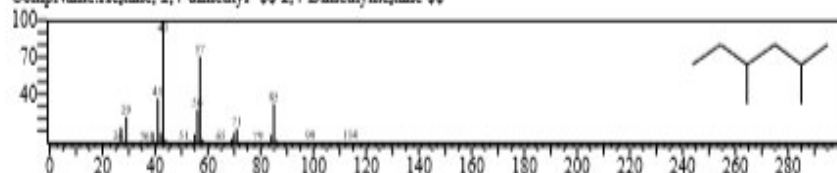
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 3463 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C₈H₁₈ CAS: 589-43-5 MolWeight: 114 RetIndex: 688

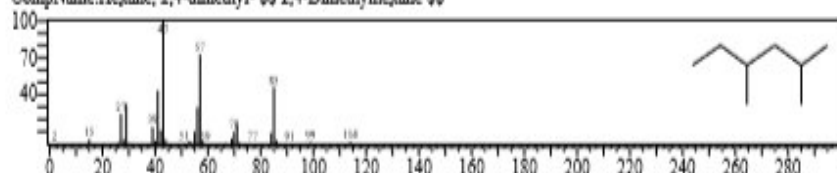
CompName: Hexane, 2,4-dimethyl- \$\$ 2,4-Dimethylhexane \$\$



Hit#2 Entry: 3466 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C₈H₁₈ CAS: 589-43-5 MolWeight: 114 RetIndex: 688

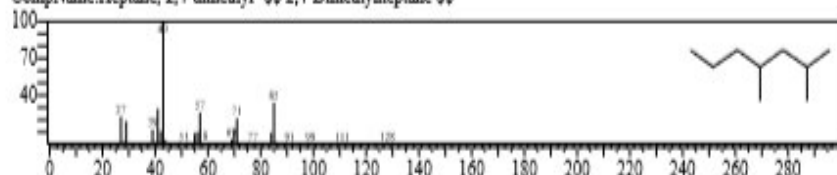
CompName: Hexane, 2,4-dimethyl- \$\$ 2,4-Dimethylhexane \$\$



Hit#3 Entry: 5394 Library: NIST14s.lib

SI: 92 Formula: C₉H₂₀ CAS: 2213-23-2 MolWeight: 128 RetIndex: 788

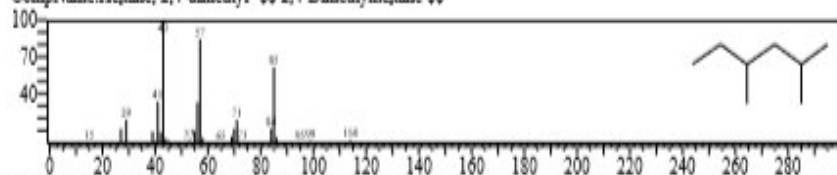
CompName: Heptane, 2,4-dimethyl- \$\$ 2,4-Dimethylheptane \$\$



Hit#4 Entry: 3467 Library: NIST14s.lib

SI: 92 Formula: C₈H₁₈ CAS: 589-43-5 MolWeight: 114 RetIndex: 688

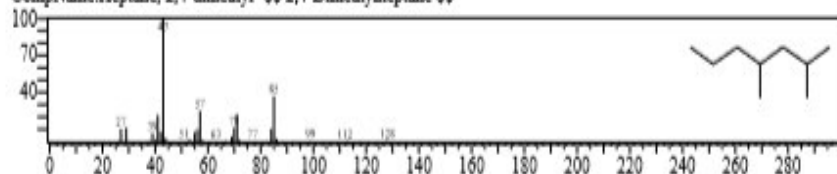
CompName: Hexane, 2,4-dimethyl- \$\$ 2,4-Dimethylhexane \$\$



Hit#5 Entry: 5398 Library: NIST14s.lib

SI: 92 Formula: C₉H₂₀ CAS: 2213-23-2 MolWeight: 128 RetIndex: 788

CompName: Heptane, 2,4-dimethyl- \$\$ 2,4-Dimethylheptane \$\$

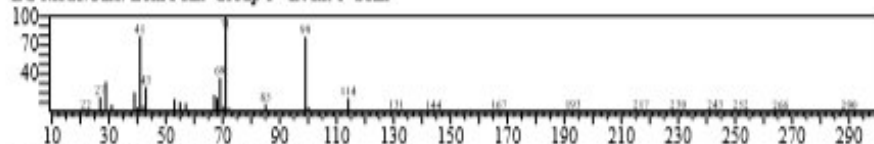


<< Target >>

Line# 4 R.Time: 5.855(Scan#: 572) MassPeaks: 175

RawMode: Averaged 5.850-5.860(571-573) BasePeak: 71.05(25066)

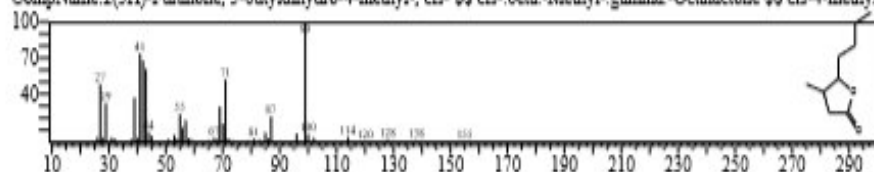
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 10677 Library: NIST14a.lib

SI: 83 Formula: C₉H₁₆O₂ CAS: 55013-32-6 MolWeight: 156 RefIndex: 1245

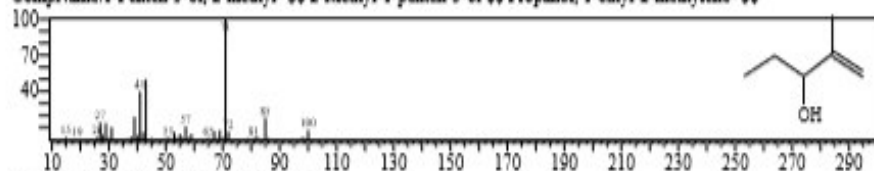
CompName: 2(3H)-Furanone, 5-butylidihydro-4-methyl-, cis- β -methyl- γ -Octalactone β -cis-4-methyl-



Hit# 2 Entry: 1915 Library: NIST14a.lib

SI: 82 Formula: C₆H₁₂O CAS: 2088-07-5 MolWeight: 100 RefIndex: 747

CompName: 1-Penten-3-ol, 2-methyl- β -2-Methyl-1-penten-3-ol β -Propanol, 1-ethyl-2-methylene- β -



Hit# 3 Entry: 10680 Library: NIST14a.lib

SI: 82 Formula: C₉H₁₆O₂ CAS: 123-68-2 MolWeight: 156 RefIndex: 1073

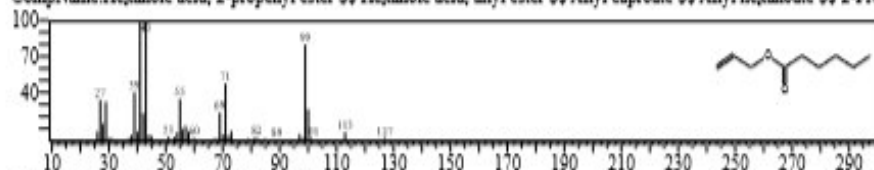
CompName: Hexanoic acid, 2-propenyl ester β -Hexanoic acid, allyl ester β -Allyl caproate β -Allyl hexanoate β -2-Pro



Hit# 4 Entry: 10645 Library: NIST14a.lib

SI: 82 Formula: C₉H₁₆O₂ CAS: 123-68-2 MolWeight: 156 RefIndex: 1073

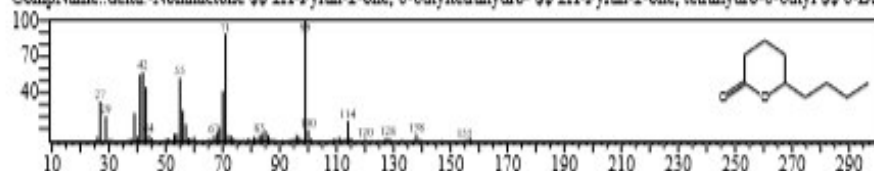
CompName: Hexanoic acid, 2-propenyl ester β -Hexanoic acid, allyl ester β -Allyl caproate β -Allyl hexanoate β -2-Pro



Hit# 5 Entry: 10682 Library: NIST14a.lib

SI: 82 Formula: C₉H₁₆O₂ CAS: 3301-94-8 MolWeight: 156 RefIndex: 1304

CompName: δ -Nonalactone β -2H-Pyran-2-one, 6-butyltetrahydro- β -2H-Pyran-2-one, tetrahydro-6-butyl β -6-But

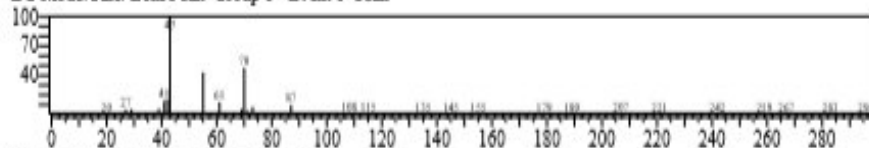


<< Target >>

Line# 5 R.Time: 8.255(Scan#: 1052) MassPeaks: 172

RawMode: Averaged 8.250-8.260(1051-1053) BasePeak: 43.00(63241)

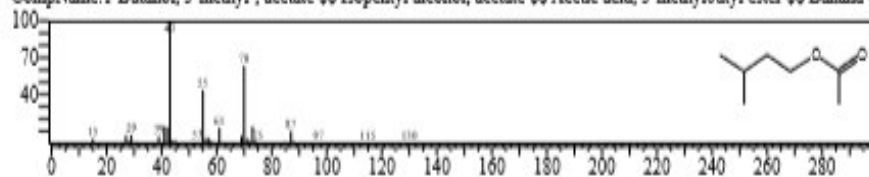
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 5650 Library: NIST14s.lib

SI-96 Formula: C7H14O2 CAS: 123-92-2 MolWeight: 130 RetIndex: 820

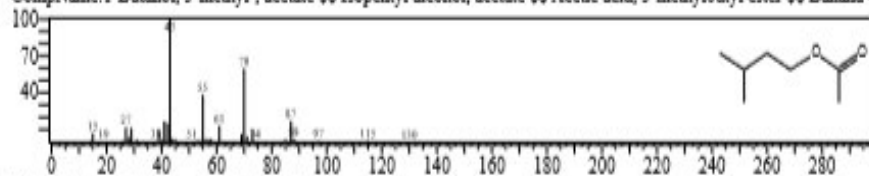
CompName: 1-Butanol, 3-methyl-, acetate \$\$ Isopentyl alcohol, acetate \$\$ Acetic acid, 3-methylbutyl ester \$\$ Banana oi



Hit#2 Entry: 5649 Library: NIST14s.lib

SI-96 Formula: C7H14O2 CAS: 123-92-2 MolWeight: 130 RetIndex: 820

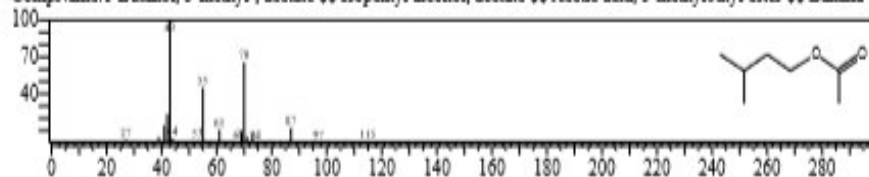
CompName: 1-Butanol, 3-methyl-, acetate \$\$ Isopentyl alcohol, acetate \$\$ Acetic acid, 3-methylbutyl ester \$\$ Banana oi



Hit#3 Entry: 5652 Library: NIST14s.lib

SI-95 Formula: C7H14O2 CAS: 123-92-2 MolWeight: 130 RetIndex: 820

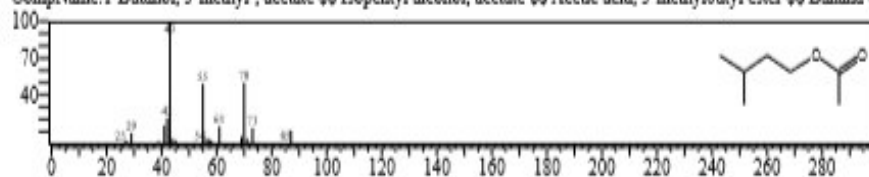
CompName: 1-Butanol, 3-methyl-, acetate \$\$ Isopentyl alcohol, acetate \$\$ Acetic acid, 3-methylbutyl ester \$\$ Banana oi



Hit#4 Entry: 5651 Library: NIST14s.lib

SI-95 Formula: C7H14O2 CAS: 123-92-2 MolWeight: 130 RetIndex: 820

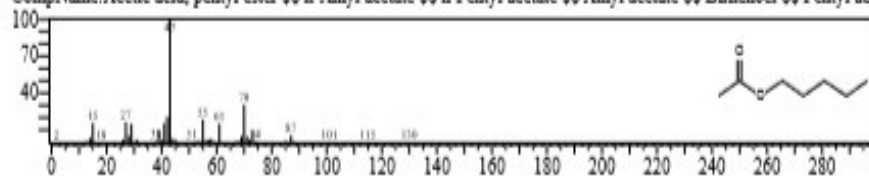
CompName: 1-Butanol, 3-methyl-, acetate \$\$ Isopentyl alcohol, acetate \$\$ Acetic acid, 3-methylbutyl ester \$\$ Banana oi



Hit#5 Entry: 5647 Library: NIST14s.lib

SI-91 Formula: C7H14O2 CAS: 628-63-7 MolWeight: 130 RetIndex: 884

CompName: Acetic acid, pentyl ester \$\$ n-Amyl acetate \$\$ n-Pentyl acetate \$\$ Amyl acetate \$\$ Birnenolol \$\$ Pentyl acet

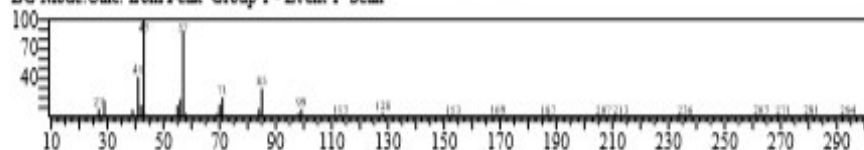


<< Target >>

Line# 6 R.Time: 9.560(Scan# 1313) MassPeaks: 178

RawMode: Averaged 9.555-9.565(1312-1314) BasePeak: 43.00(33200)

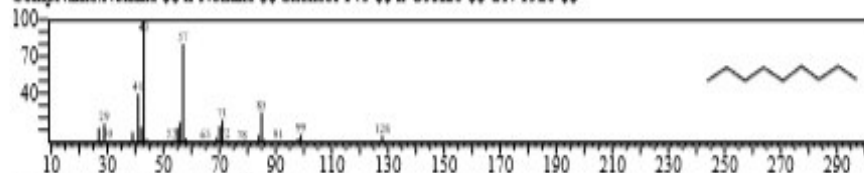
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 5382 Library: NIST14s.lib

SI: 97 Formula: C₉H₂₀ CAS: 111-84-2 MolWeight: 128 RefIndex: 916

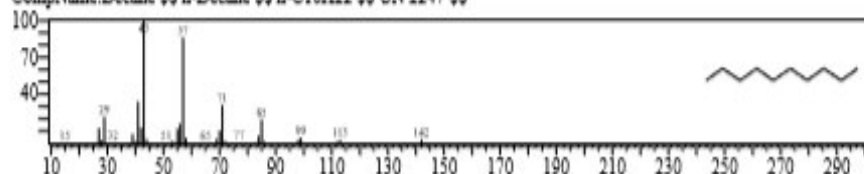
CompName: Nonane \$\$ n-Nonane \$\$ Shellsol 140 \$\$ n-C₉H₂₀ \$\$ UN 1920 \$\$



Hit#2 Entry: 7907 Library: NIST14s.lib

SI: 95 Formula: C₁₀H₂₂ CAS: 124-18-5 MolWeight: 142 RefIndex: 1015

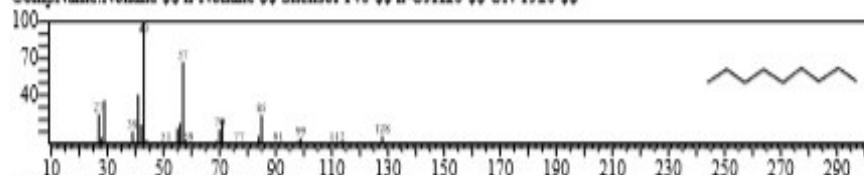
CompName: Decane \$\$ n-Decane \$\$ n-C₁₀H₂₂ \$\$ UN 2247 \$\$



Hit#3 Entry: 5381 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C₉H₂₀ CAS: 111-84-2 MolWeight: 128 RefIndex: 916

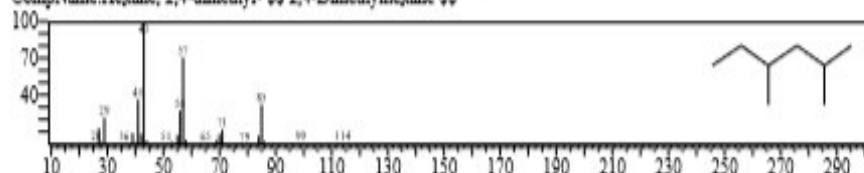
CompName: Nonane \$\$ n-Nonane \$\$ Shellsol 140 \$\$ n-C₉H₂₀ \$\$ UN 1920 \$\$



Hit#4 Entry: 3463 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C₈H₁₈ CAS: 589-43-5 MolWeight: 114 RefIndex: 688

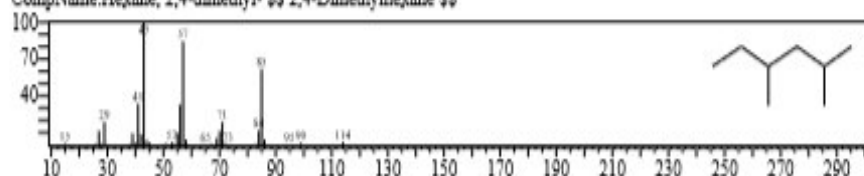
CompName: Hexane, 2,4-dimethyl- \$\$ 2,4-Dimethylhexane \$\$



Hit#5 Entry: 3467 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C₈H₁₈ CAS: 589-43-5 MolWeight: 114 RefIndex: 688

CompName: Hexane, 2,4-dimethyl- \$\$ 2,4-Dimethylhexane \$\$

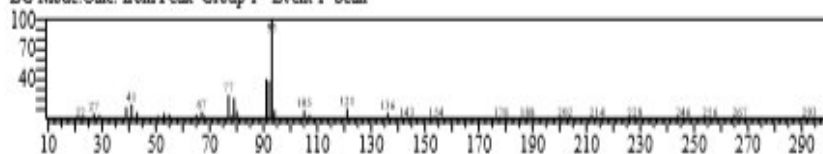


<< Target >>

Line# 7 RTime:12.095(Scan#1820) MassPeaks:174

RawMode:Averaged 12.090-12.100(1819-1821) BasePeak:93.10(765905)

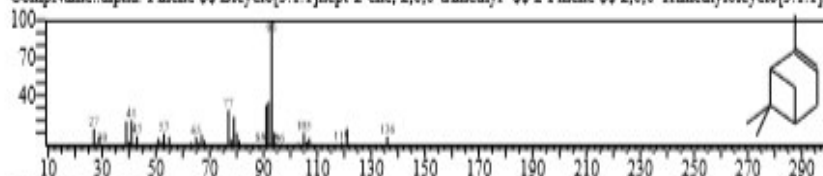
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:6850 Library:NIST14s.lib

SI-96 Formula:C10H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:948

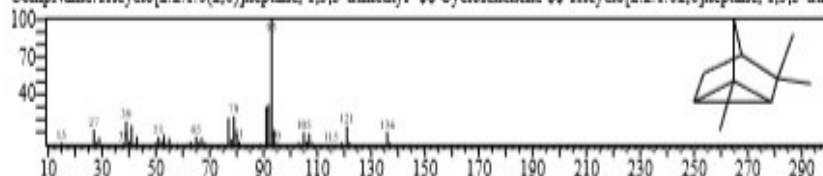
CompName:alpha-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- \$\$ 2-Pinene \$\$ 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]h



Hit#2 Entry:6848 Library:NIST14s.lib

SI-95 Formula:C10H16 CAS:488-97-1 MolWeight:136 RetIndex:729

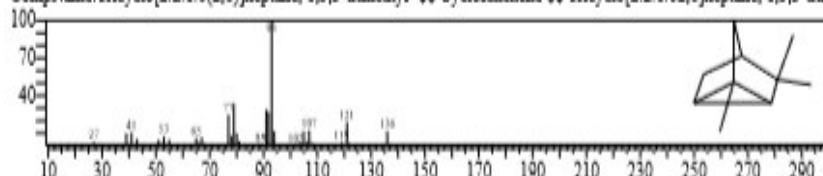
CompName:Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ Cyclofenchene \$\$ Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trim



Hit#3 Entry:6828 Library:NIST14s.lib

SI-93 Formula:C10H16 CAS:488-97-1 MolWeight:136 RetIndex:729

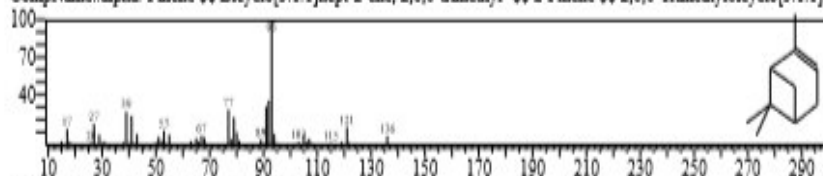
CompName:Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ Cyclofenchene \$\$ Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trim



Hit#4 Entry:6849 Library:NIST14s.lib

SI-93 Formula:C10H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:948

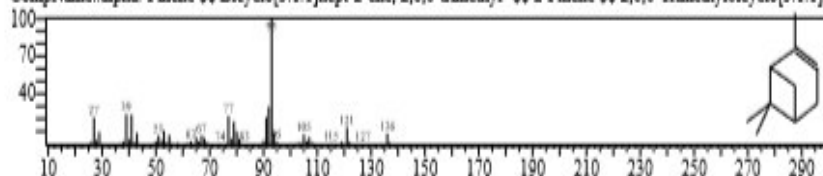
CompName:alpha-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- \$\$ 2-Pinene \$\$ 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]h



Hit#5 Entry:6847 Library:NIST14s.lib

SI-93 Formula:C10H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:948

CompName:alpha-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- \$\$ 2-Pinene \$\$ 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]h

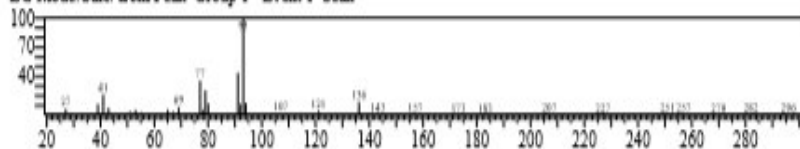


<< Target >>

Line# 8 R.Time: 16.270(Scan# 2655) MassPeaks: 199

RawMode: Averaged 16.265-16.275(2654-2656) BasePeak: 93.10(31751)

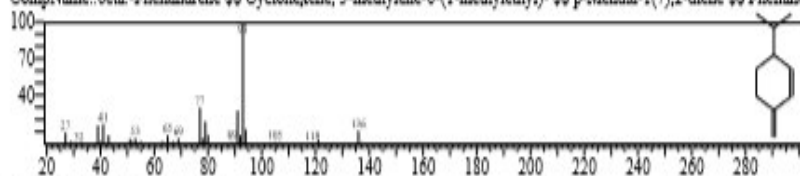
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 6822 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 555-10-2 MolWeight: 136 RetIndex: 964

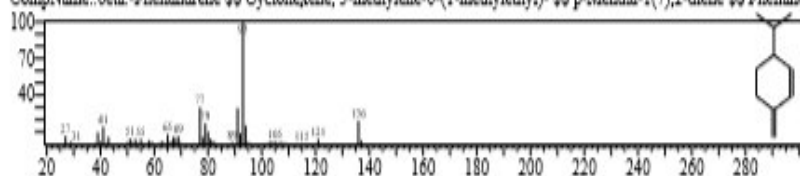
CompName: beta-Phellandrene \$\$ Cyclohexene, 3-methylene-6-(1-methylethyl)- \$\$ p-Mentha-1(7),2-diene \$\$ Phellandrene



Hit# 2 Entry: 6823 Library: NIST14s.lib

SI: 92 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 555-10-2 MolWeight: 136 RetIndex: 964

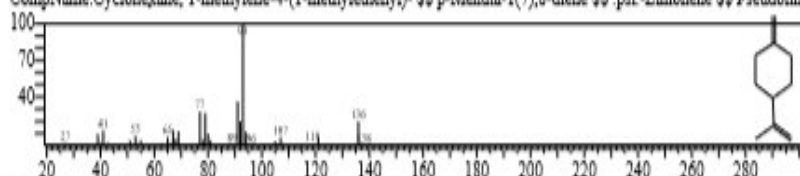
CompName: beta-Phellandrene \$\$ Cyclohexene, 3-methylene-6-(1-methylethyl)- \$\$ p-Mentha-1(7),2-diene \$\$ Phellandrene



Hit# 3 Entry: 6833 Library: NIST14s.lib

SI: 92 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 499-97-8 MolWeight: 136 RetIndex: 1013

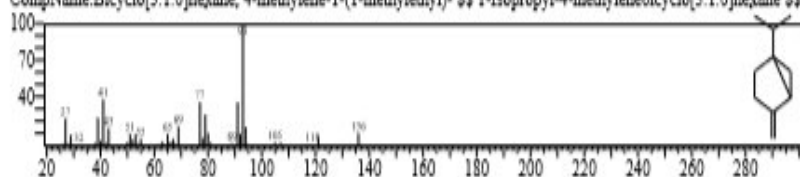
CompName: Cyclohexene, 1-methylene-4-(1-methylethyl)- \$\$ p-Mentha-1(7),8-diene \$\$ psi-Limonene \$\$ Pseudolimonene



Hit# 4 Entry: 6817 Library: NIST14s.lib

SI: 91 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 3387-41-5 MolWeight: 136 RetIndex: 897

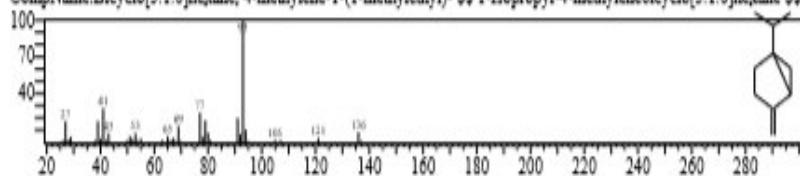
CompName: Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- \$\$ 1-Isopropyl-4-methylenebicyclo[3.1.0]hexane \$\$



Hit# 5 Entry: 6811 Library: NIST14s.lib

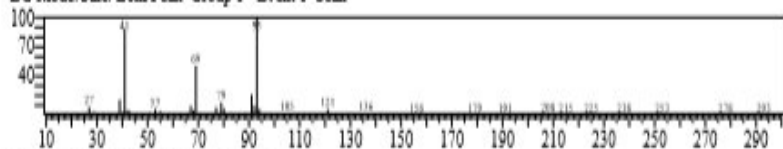
SI: 91 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 3387-41-5 MolWeight: 136 RetIndex: 897

CompName: Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- \$\$ 1-Isopropyl-4-methylenebicyclo[3.1.0]hexane \$\$

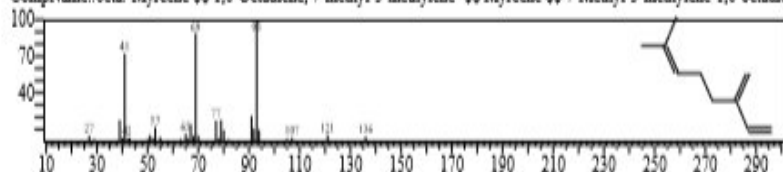


<< Target >>

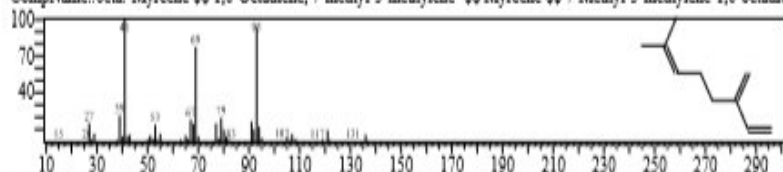
Line# 9 RTime: 19.095 (Scan# 3220) MassPeaks: 173
RawMode: Averaged 19.090-19.100 (3219-3221) BasePeak: 93.10 (60934)
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



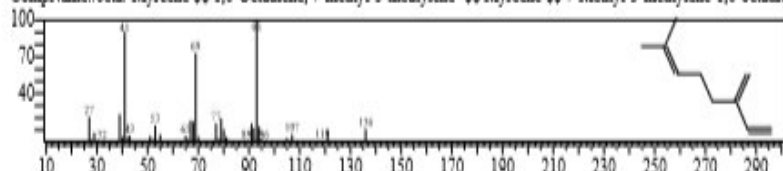
Hit#1 Entry: 6820 Library: NIST14s.lib
SI: 92 Formula: C10H16 CAS: 123-35-3 MolWeight: 136 RetIndex: 958
CompName: beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene



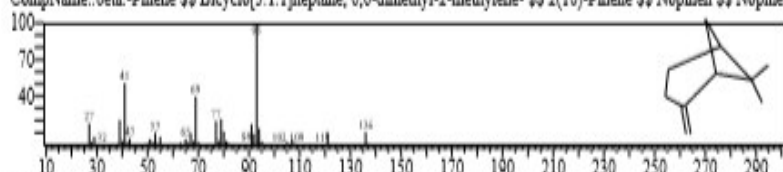
Hit#2 Entry: 6778 Library: NIST14s.lib
SI: 91 Formula: C10H16 CAS: 123-35-3 MolWeight: 136 RetIndex: 958
CompName: beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene



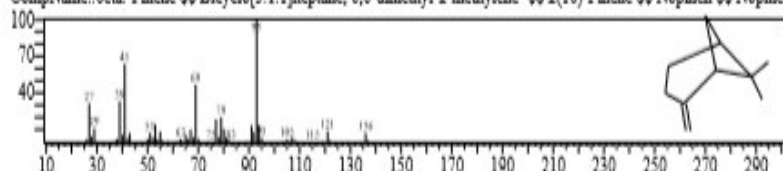
Hit#3 Entry: 6810 Library: NIST14s.lib
SI: 91 Formula: C10H16 CAS: 123-35-3 MolWeight: 136 RetIndex: 958
CompName: beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene



Hit#4 Entry: 6809 Library: NIST14s.lib
SI: 90 Formula: C10H16 CAS: 127-91-3 MolWeight: 136 RetIndex: 943
CompName: beta-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene- \$\$ 2(10)-Pinene \$\$ Nopinene \$\$ Nopinene



Hit#5 Entry: 6807 Library: NIST14s.lib
SI: 90 Formula: C10H16 CAS: 127-91-3 MolWeight: 136 RetIndex: 943
CompName: beta-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene- \$\$ 2(10)-Pinene \$\$ Nopinene \$\$ Nopinene



<< Target >>

Line#10 R.Time:19.125(Scan#3226) MassPeaks:139

RawMode:Averaged 19.120-19.130(3225-3227) BasePeak:93.10(28062)

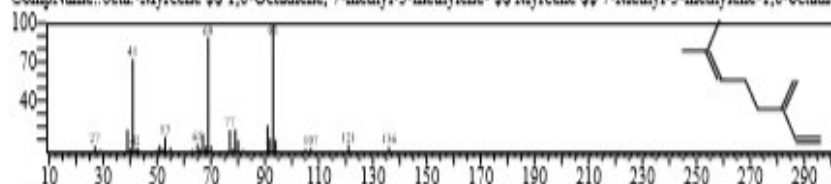
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:6820 Library:NIST14s.lib

SI:90 Formula:C10H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RefIndex:958

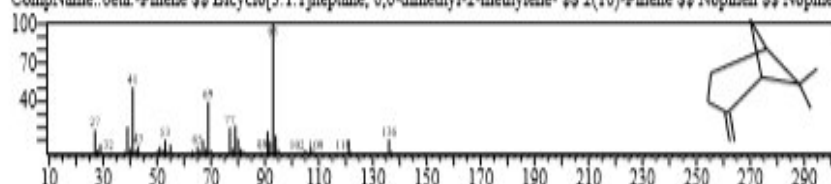
CompName:beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene



Hit#2 Entry:6809 Library:NIST14s.lib

SI:89 Formula:C10H16 CAS:127-91-3 MolWeight:136 RefIndex:943

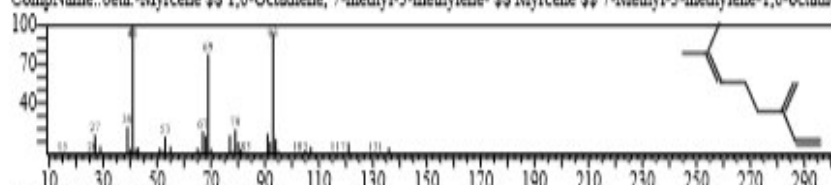
CompName:beta-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene- \$\$ 2(10)-Pinene \$\$ Nopinene \$\$ Nopinene



Hit#3 Entry:6778 Library:NIST14s.lib

SI:89 Formula:C10H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RefIndex:958

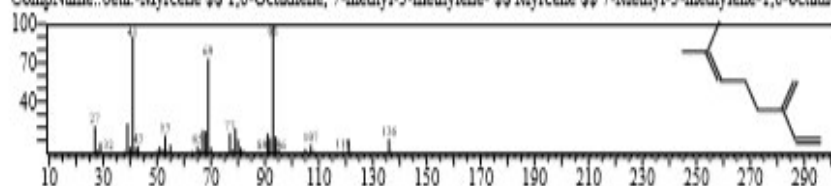
CompName:beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene



Hit#4 Entry:6810 Library:NIST14s.lib

SI:89 Formula:C10H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RefIndex:958

CompName:beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene



Hit#5 Entry:6808 Library:NIST14s.lib

SI:88 Formula:C10H16 CAS:127-91-3 MolWeight:136 RefIndex:943

CompName:beta-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene- \$\$ 2(10)-Pinene \$\$ Nopinene \$\$ Nopinene

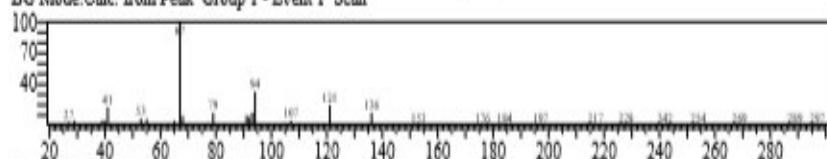


<< Target >>

Line# 11 R.Time: 25.405 (Scan# 4482) MassPeaks: 149

RawMode: Averaged 25.400-25.410 (4481-4483) BasePeak: 67.05 (79430)

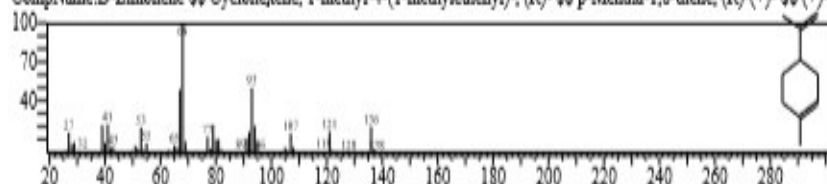
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 6792 Library: NIST14s.lib

SI: 78 Formula: C10H16 CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

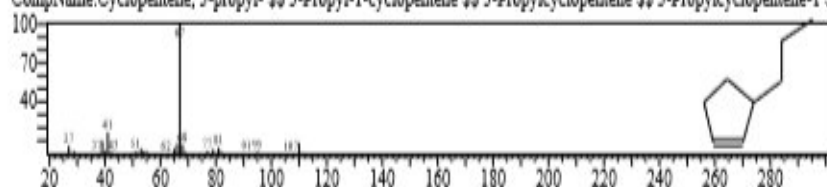
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit# 2 Entry: 2797 Library: NIST14s.lib

SI: 77 Formula: C8H14 CAS: 34067-75-9 MolWeight: 110 RetIndex: 842

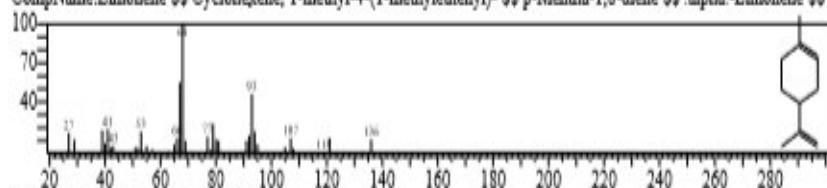
CompName: Cyclopentene, 3-propyl- \$\$ 3-Propyl-1-cyclopentene \$\$ 3-Propylcyclopentene \$\$ 3-Propylcyclopentene-1



Hit# 3 Entry: 6785 Library: NIST14s.lib

SI: 77 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

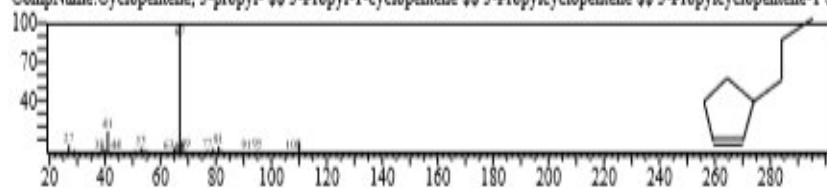
CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$.alpha.-Limonene \$\$



Hit# 4 Entry: 2805 Library: NIST14s.lib

SI: 77 Formula: C8H14 CAS: 34067-75-9 MolWeight: 110 RetIndex: 842

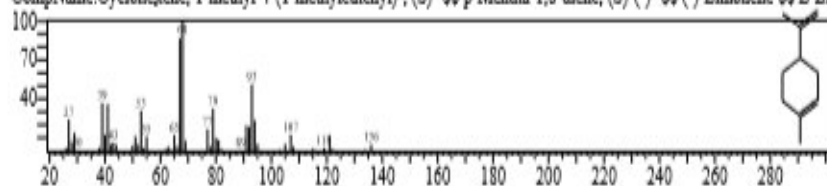
CompName: Cyclopentene, 3-propyl- \$\$ 3-Propyl-1-cyclopentene \$\$ 3-Propylcyclopentene \$\$ 3-Propylcyclopentene-1



Hit# 5 Entry: 6787 Library: NIST14s.lib

SI: 77 Formula: C10H16 CAS: 5989-54-8 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

CompName: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (S)-(-)- \$\$ (-)-Limonene \$\$ L-Li

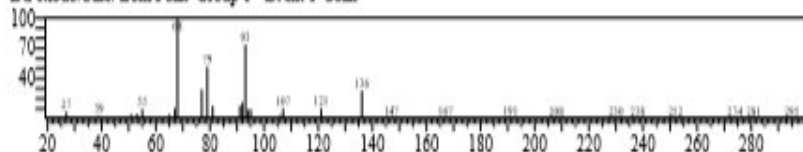


<< Target >>

Line# 12 R.Time: 25.990 (Scan# 4599) MassPeaks: 149

RawMode: Averaged 25.985-25.995 (4598-4600) BasePeak: 68.05 (44423)

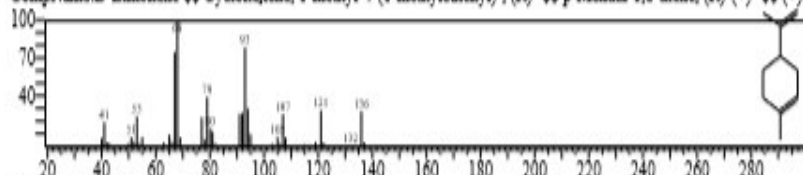
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 6793 Library: NIST14s.lib

SI: 82 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

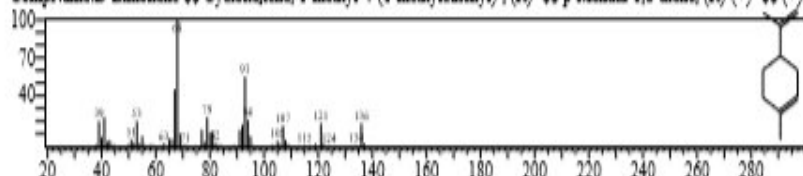
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit# 2 Entry: 6791 Library: NIST14s.lib

SI: 81 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

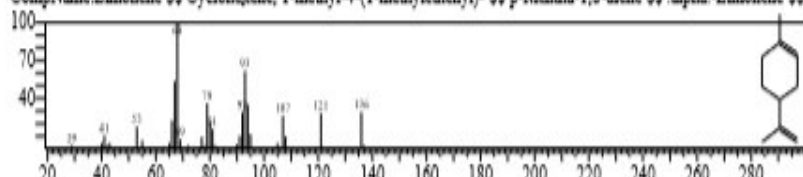
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit# 3 Entry: 6790 Library: NIST14s.lib

SI: 80 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

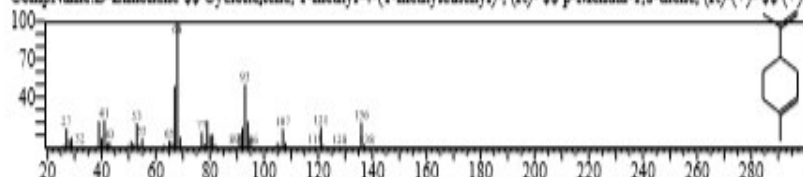
CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit# 4 Entry: 6792 Library: NIST14s.lib

SI: 80 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

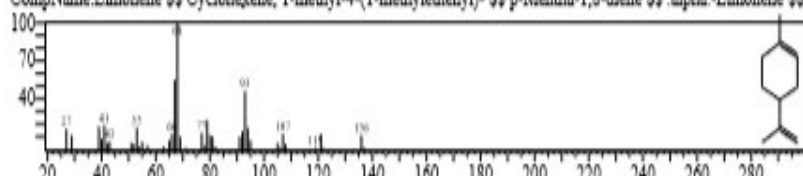
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit# 5 Entry: 6785 Library: NIST14s.lib

SI: 79 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$

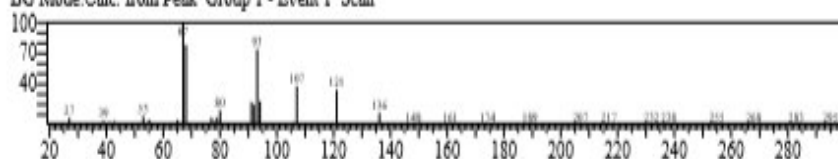


<< Target >>

Line# 13 R-Time: 26.050 (Scan# 4611) MassPeaks: 163

RawMode: Averaged 26.045-26.055 (4610-4612) BasePeak: 67.05 (66050)

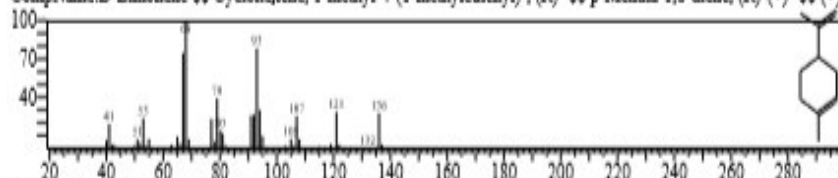
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 6793 Library: NIST14s.lib

SI: 86 Formula: C10H16 CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

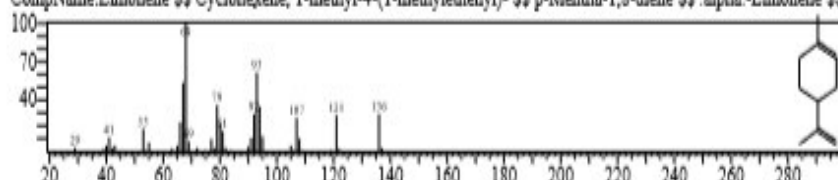
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#2 Entry: 6790 Library: NIST14s.lib

SI: 84 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

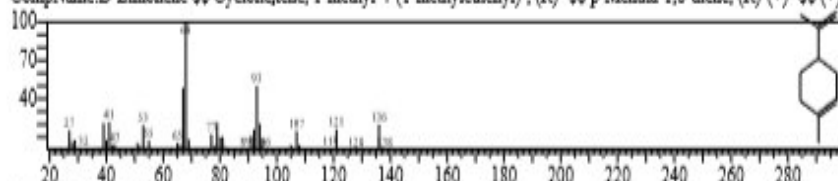
CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit#3 Entry: 6792 Library: NIST14s.lib

SI: 83 Formula: C10H16 CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

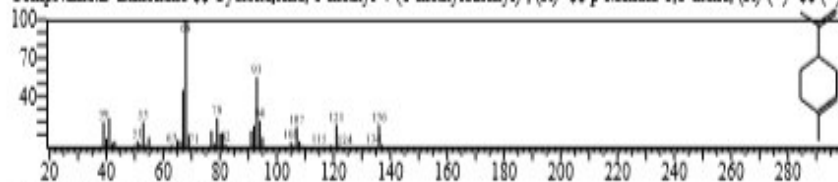
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#4 Entry: 6791 Library: NIST14s.lib

SI: 83 Formula: C10H16 CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

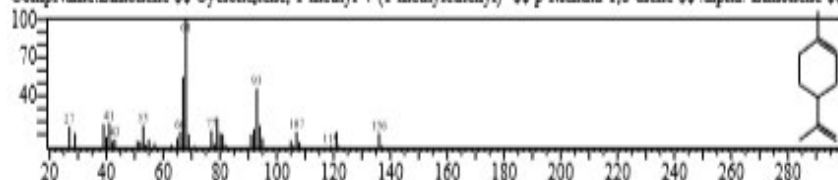
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#5 Entry: 6785 Library: NIST14s.lib

SI: 82 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$

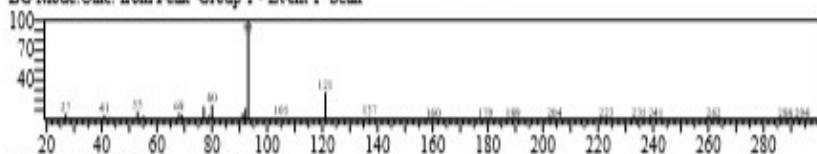


<< Target >>

Line# 14 R.Time: 26.185(Scan#: 4638) MassPeaks: 161

RawMode: Averaged 26.180-26.190(4637-4639) BasePeak: 93.10(69920)

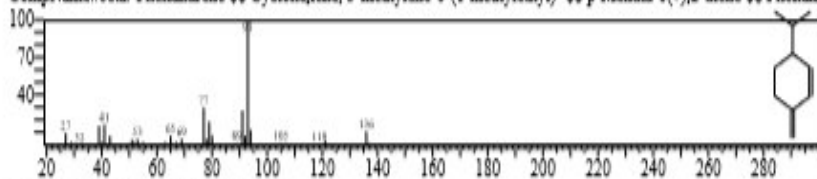
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 6822 Library: NIST14s.lib

SI: 80 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 555-10-2 MolWeight: 136 RetIndex: 964

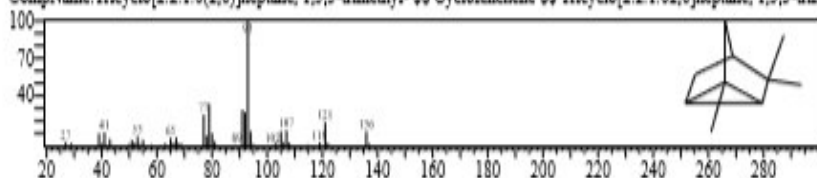
CompName: beta-Phellandrene \$\$ Cyclohexene, 3-methylene-6-(1-methylethyl)- \$\$ p-Mentha-1(7),2-diene \$\$ Phellandrene



Hit# 2 Entry: 6828 Library: NIST14s.lib

SI: 79 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 488-97-1 MolWeight: 136 RetIndex: 729

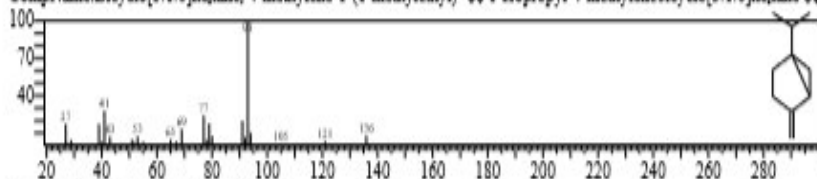
CompName: Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ Cyclofenchene \$\$ Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-



Hit# 3 Entry: 6811 Library: NIST14s.lib

SI: 79 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 3387-41-5 MolWeight: 136 RetIndex: 897

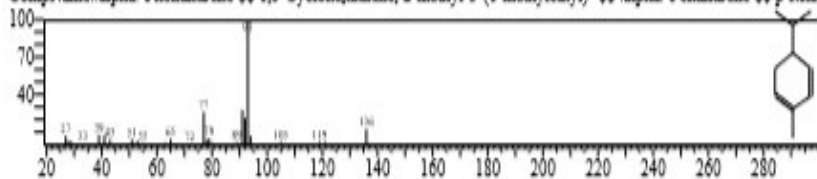
CompName: Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- \$\$ 1-Isopropyl-4-methylenebicyclo[3.1.0]hexane



Hit# 4 Entry: 6841 Library: NIST14s.lib

SI: 79 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 99-83-2 MolWeight: 136 RetIndex: 969

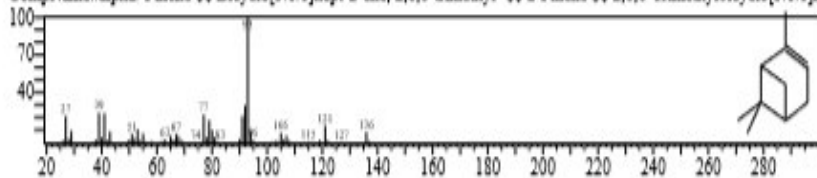
CompName: alpha-Phellandrene \$\$ 1,3-Cyclohexadiene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- \$\$ alpha-Phellandrene \$\$ p-Mentha-1(7),2-diene



Hit# 5 Entry: 6847 Library: NIST14s.lib

SI: 79 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 80-56-8 MolWeight: 136 RetIndex: 948

CompName: alpha-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- \$\$ 2-Pinene \$\$ 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene

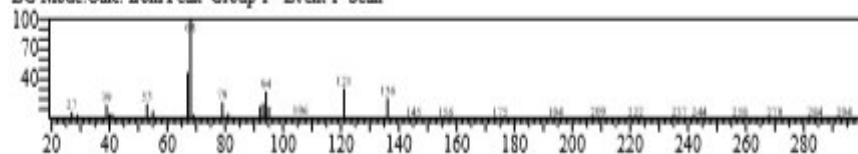


<< Target >>

Line# 15 R.Time: 26.225 (Scan#: 4646) MassPeaks: 173

RawMode: Averaged 26.220-26.230 (4645-4647) BasePeak: 68.05 (70865)

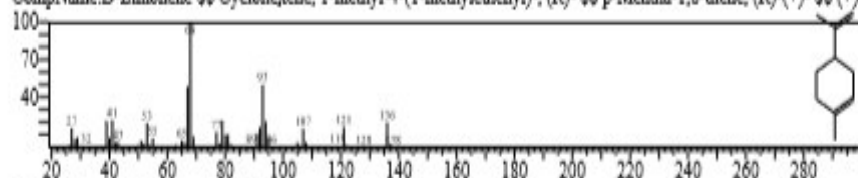
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 6792 Library: NIST14s.lib

SI: 86 Formula: C10H16 CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

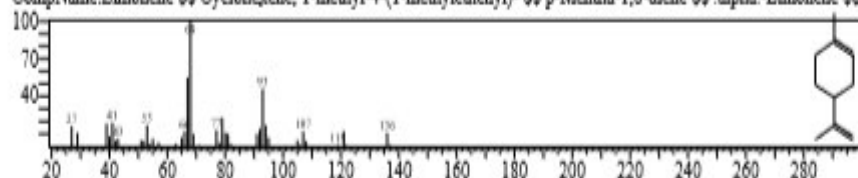
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#2 Entry: 6785 Library: NIST14s.lib

SI: 84 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

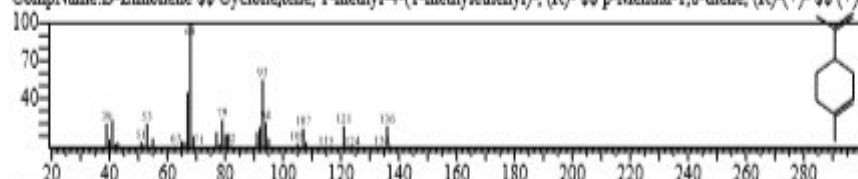
CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit#3 Entry: 6791 Library: NIST14s.lib

SI: 83 Formula: C10H16 CAS: 5989-27-5 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

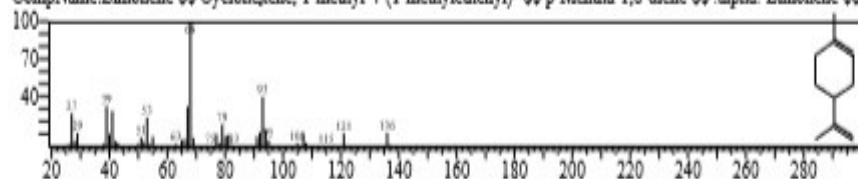
CompName: D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#4 Entry: 6789 Library: NIST14s.lib

SI: 83 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

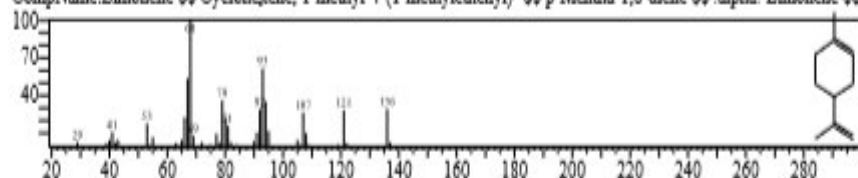
CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit#5 Entry: 6790 Library: NIST14s.lib

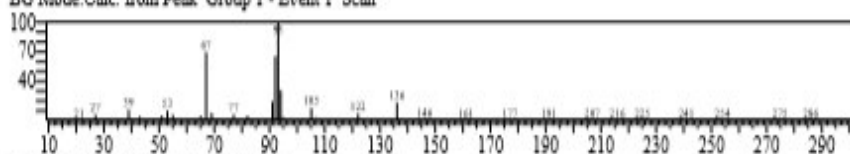
SI: 82 Formula: C10H16 CAS: 138-86-3 MolWeight: 136 RetIndex: 1018

CompName: Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



<< Target >>

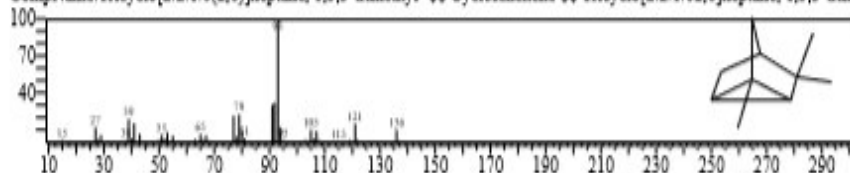
Line# 16 R.Time:26.410(Scan#:4683) MassPeaks:146
RawMode:Averaged 26.405-26.415(4682-4684) BasePeak:93.10(51510)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:6848 Library:NIST14s.lib

SI:77 Formula:C10H16 CAS:488-97-1 MolWeight:136 RetIndex:729

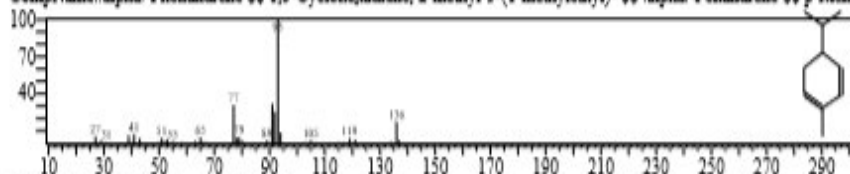
CompName:Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ Cyclofenchene \$\$ Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-



Hit#2 Entry:6839 Library:NIST14s.lib

SI:76 Formula:C10H16 CAS:99-83-2 MolWeight:136 RetIndex:969

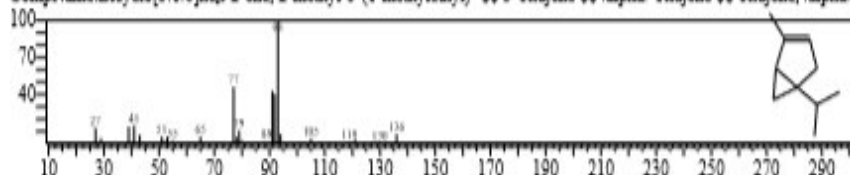
CompName:alpha-Phellandrene \$\$ 1,3-Cyclohexadiene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- \$\$ alpha-Fellandrene \$\$ p-Ment



Hit#3 Entry:6824 Library:NIST14s.lib

SI:76 Formula:C10H16 CAS:2867-05-2 MolWeight:136 RetIndex:902

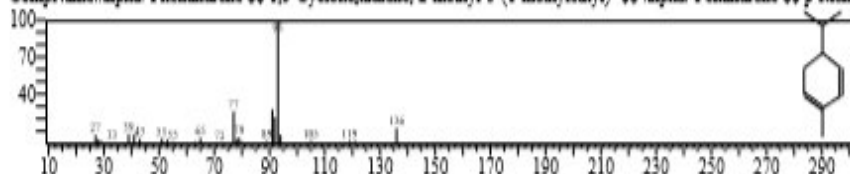
CompName:Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- \$\$ 3-Thujene \$\$ alpha-Thujene \$\$ Thujene, alpha-



Hit#4 Entry:6841 Library:NIST14s.lib

SI:76 Formula:C10H16 CAS:99-83-2 MolWeight:136 RetIndex:969

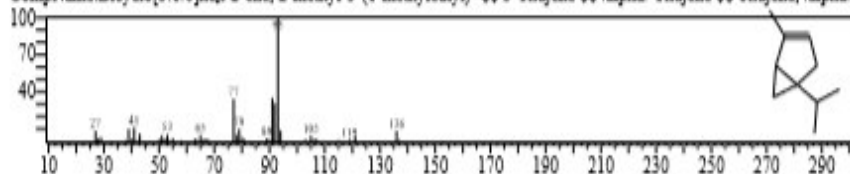
CompName:alpha-Phellandrene \$\$ 1,3-Cyclohexadiene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- \$\$ alpha-Fellandrene \$\$ p-Ment



Hit#5 Entry:6837 Library:NIST14s.lib

SI:76 Formula:C10H16 CAS:2867-05-2 MolWeight:136 RetIndex:902

CompName:Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- \$\$ 3-Thujene \$\$ alpha-Thujene \$\$ Thujene, alpha-

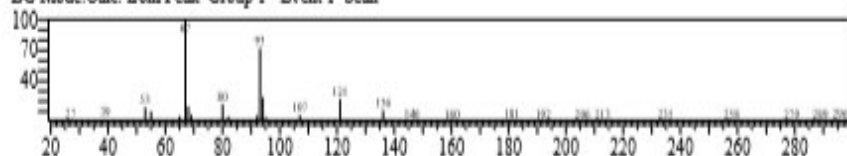


<< Target >>

Line# 17 R.Time:26.450(Scan#:4691) MassPeaks:147

RawMode:Averaged 26.445-26.455(4690-4692) BasePeak:67.05(49532)

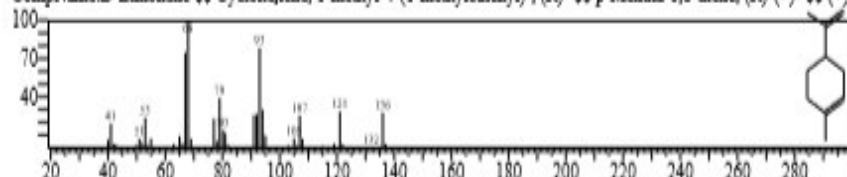
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry:6793 Library:NIST14s.lib

SI:75 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RefIndex:1018

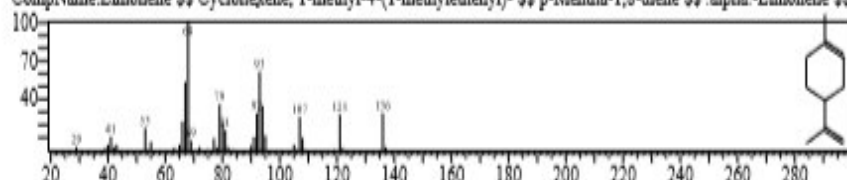
CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit# 2 Entry:6790 Library:NIST14s.lib

SI:74 Formula:C10H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RefIndex:1018

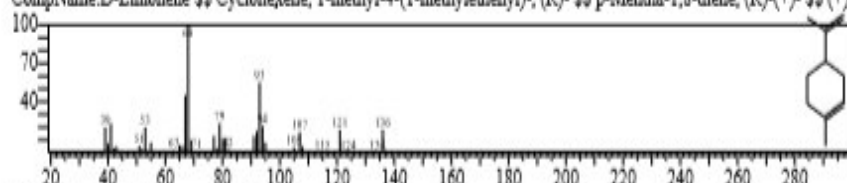
CompName:Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$.alpha.-Limonene \$\$



Hit# 3 Entry:6791 Library:NIST14s.lib

SI:73 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RefIndex:1018

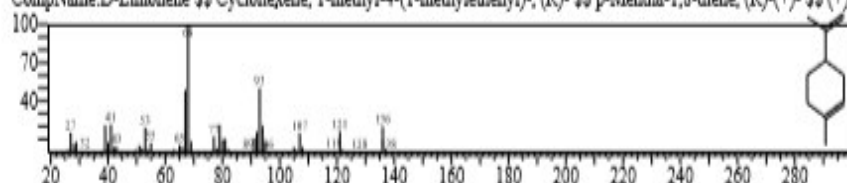
CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit# 4 Entry:6792 Library:NIST14s.lib

SI:73 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RefIndex:1018

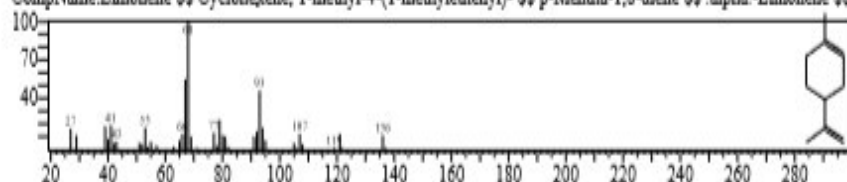
CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit# 5 Entry:6785 Library:NIST14s.lib

SI:72 Formula:C10H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RefIndex:1018

CompName:Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$.alpha.-Limonene \$\$

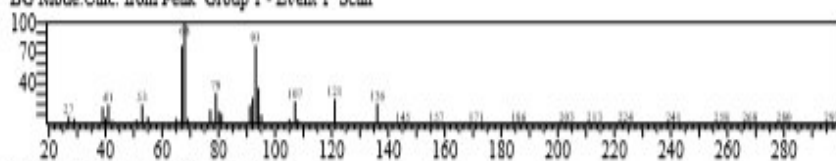


<< Target >>

Line#18 R.Time:26.500(Scan#:4701) MassPeaks:195

RawMode:Averaged 26.495-26.505(4700-4702) BasePeak:68.05(1677708)

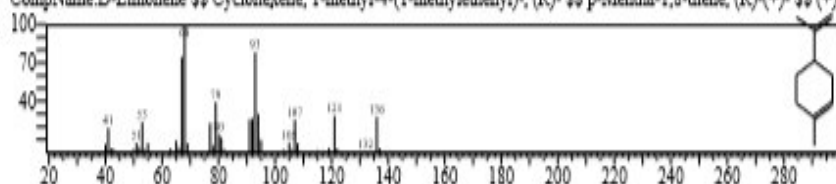
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry:6793 Library:NIST14s.lib

SI:94 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018

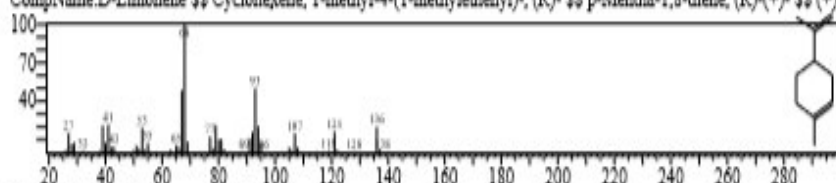
CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#2 Entry:6792 Library:NIST14s.lib

SI:93 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018

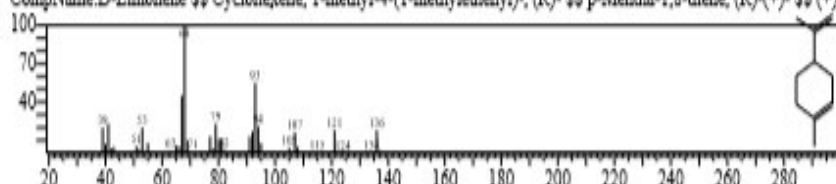
CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#3 Entry:6791 Library:NIST14s.lib

SI:92 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018

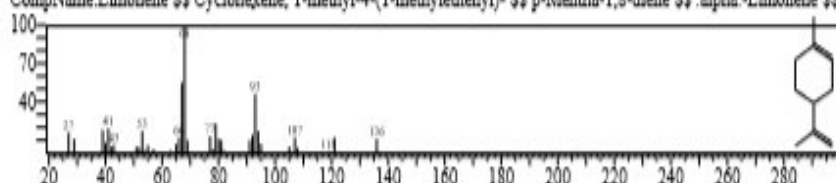
CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- \$\$ (+)-



Hit#4 Entry:6785 Library:NIST14s.lib

SI:91 Formula:C10H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RetIndex:1018

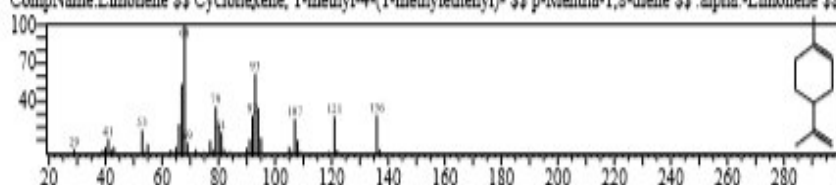
CompName:Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$



Hit#5 Entry:6790 Library:NIST14s.lib

SI:91 Formula:C10H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RetIndex:1018

CompName:Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$\$ p-Mentha-1,8-diene \$\$ alpha-Limonene \$\$

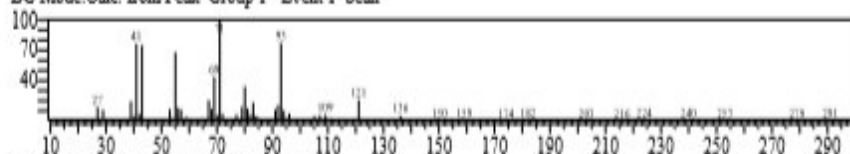


<< Target >>

Line# 19 R.Time: 37.985(Scan#: 6998) MassPeaks: 183

RawMode: Averaged 37.980-37.990(6997-6999) BasePeak: 71.05(18752)

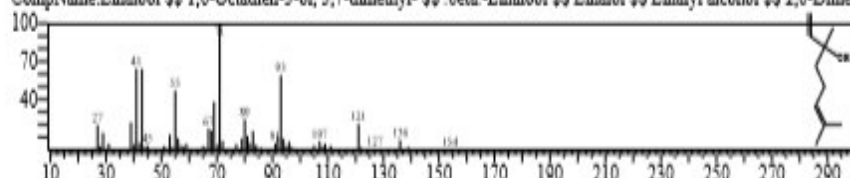
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 10353 Library: NIST14s.lib

SI: 94 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 1082

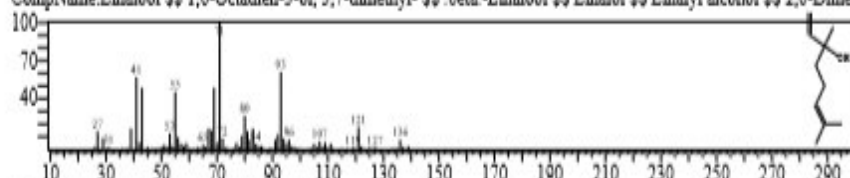
CompName: Linalool \$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$ beta-Linalool \$ Linalol \$ Linalyl alcohol \$ 2,6-Dimethyl



Hit#2 Entry: 10360 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 1082

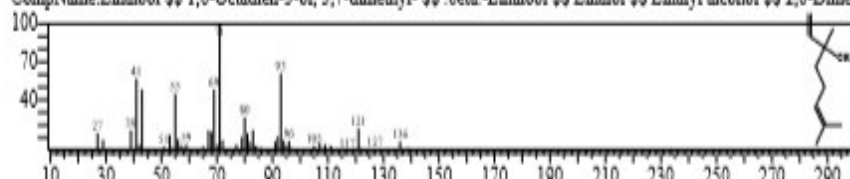
CompName: Linalool \$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$ beta-Linalool \$ Linalol \$ Linalyl alcohol \$ 2,6-Dimethyl



Hit#3 Entry: 10359 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 1082

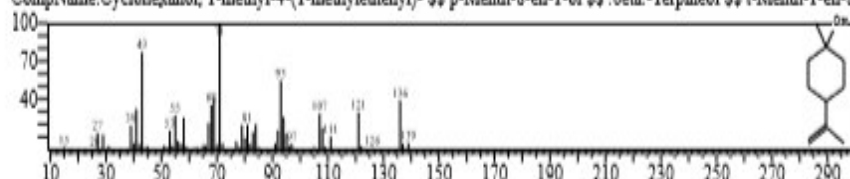
CompName: Linalool \$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$ beta-Linalool \$ Linalol \$ Linalyl alcohol \$ 2,6-Dimethyl



Hit#4 Entry: 10356 Library: NIST14s.lib

SI: 87 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 138-87-4 MolWeight: 154 RetIndex: 1158

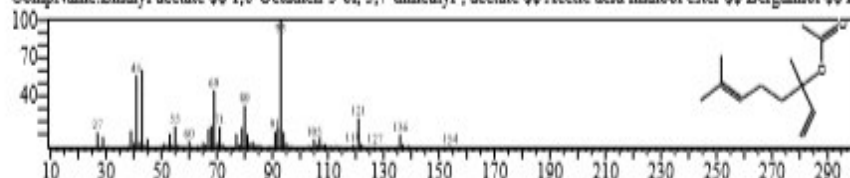
CompName: Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- \$ p-Menth-8-en-1-ol \$ beta-Terpineol \$ t-Menth-1-en-8-



Hit#5 Entry: 17803 Library: NIST14s.lib

SI: 86 Formula: C₁₂H₂₀O₂ CAS: 115-95-7 MolWeight: 196 RetIndex: 1272

CompName: Linalyl acetate \$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, acetate \$ Acetic acid linalool ester \$ Bergamotol \$ B

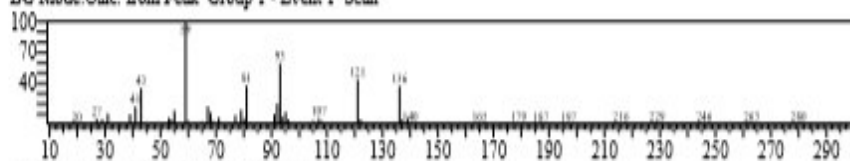


<< Target >>

Line# 20 R-Time: 45.430 (Scan# 8487) MassPeaks: 174

RawMode: Averaged 45.425-45.435 (8486-8488) BasePeak: 59.05 (15541)

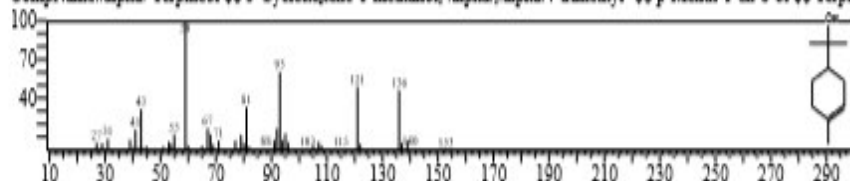
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 10327 Library: NIST14a.lib

SI: 97 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 98-55-5 MolWeight: 154 RefIndex: 1143

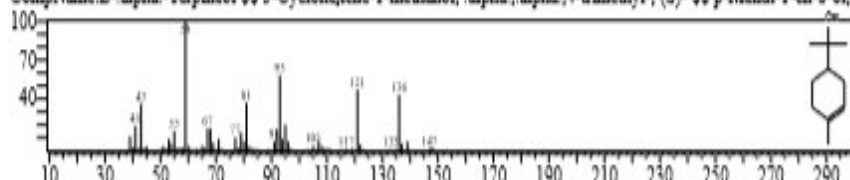
CompName: alpha-Terpineol \$\$ 3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha, 4-trimethyl-, p-Menth-1-en-8-ol \$\$ Terpin



Hit#2 Entry: 10326 Library: NIST14a.lib

SI: 94 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 10482-56-1 MolWeight: 154 RefIndex: 1143

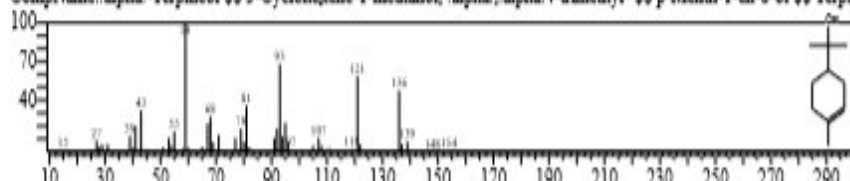
CompName: L-alpha-Terpineol \$\$ 3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha, 4-trimethyl-, (S)- p-Menth-1-en-8-ol, (



Hit#3 Entry: 10328 Library: NIST14a.lib

SI: 93 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 98-55-5 MolWeight: 154 RefIndex: 1143

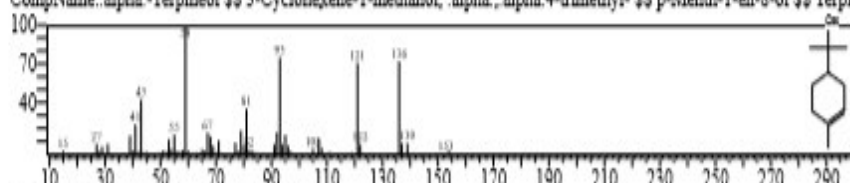
CompName: alpha-Terpineol \$\$ 3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha, 4-trimethyl-, p-Menth-1-en-8-ol \$\$ Terpin



Hit#4 Entry: 10329 Library: NIST14a.lib

SI: 93 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 98-55-5 MolWeight: 154 RefIndex: 1143

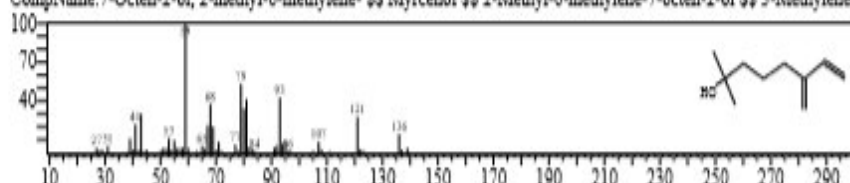
CompName: alpha-Terpineol \$\$ 3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha, 4-trimethyl-, p-Menth-1-en-8-ol \$\$ Terpin



Hit#5 Entry: 10325 Library: NIST14a.lib

SI: 87 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 543-39-5 MolWeight: 154 RefIndex: 1064

CompName: 7-Octen-2-ol, 2-methyl-6-methylene- \$\$ Myrcenol \$\$ 2-Methyl-6-methylene-7-octen-2-ol \$\$ 3-Methylene-

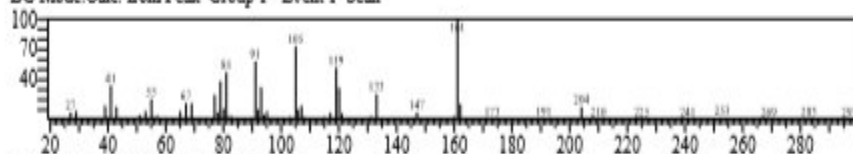


<< Target >>

Line# 21 R.Time: 60.595(Scan#: 11520) MassPeaks: 175

RawMode: Averaged 60.590-60.600(11519-11521) BasePeak: 161.15(3832)

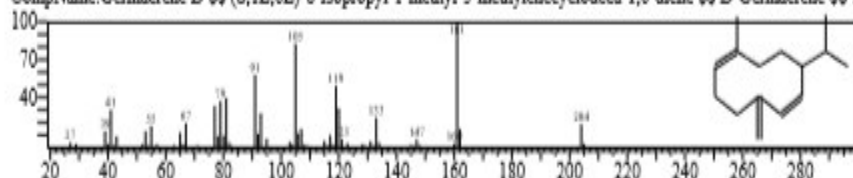
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 19185 Library: NIST14a.lib

SI: 94 Formula: C₁₅H₂₄ CAS: 23986-74-5 MolWeight: 204 RetIndex: 1515

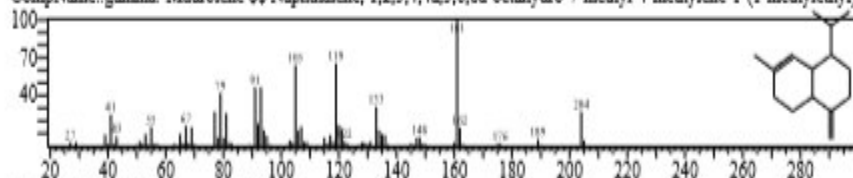
CompName: Germacrene D (S,1Z,6Z)-8-Isopropyl-1-methyl-5-methylenecyclodeca-1,6-diene D-Germacrene



Hit# 2 Entry: 19197 Library: NIST14a.lib

SI: 90 Formula: C₁₅H₂₄ CAS: 30021-74-0 MolWeight: 204 RetIndex: 1435

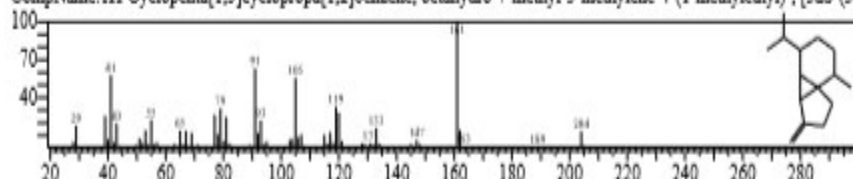
CompName: gamma-Muurolene Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-



Hit# 3 Entry: 19178 Library: NIST14a.lib

SI: 90 Formula: C₁₅H₂₄ CAS: 13744-15-5 MolWeight: 204 RetIndex: 1339

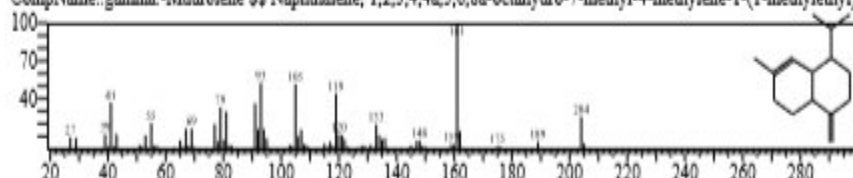
CompName: 1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1-methylethyl)-, [3aS-(3a



Hit# 4 Entry: 19180 Library: NIST14a.lib

SI: 89 Formula: C₁₅H₂₄ CAS: 30021-74-0 MolWeight: 204 RetIndex: 1435

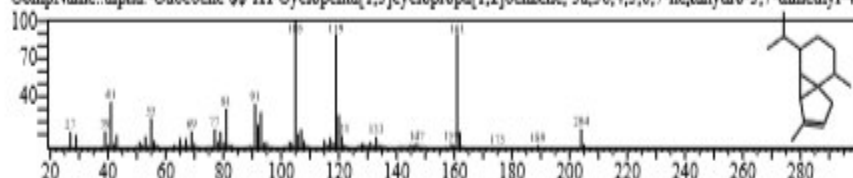
CompName: gamma-Muurolene Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-



Hit# 5 Entry: 19121 Library: NIST14a.lib

SI: 89 Formula: C₁₅H₂₄ CAS: 17699-14-8 MolWeight: 204 RetIndex: 1344

CompName: alpha-Cubebene 1H-Cyclopenta[1,5]cyclopropa[1,2]benzene, 3a,3b,4,5,6,7-hexahydro-3,7-dimethyl-4-

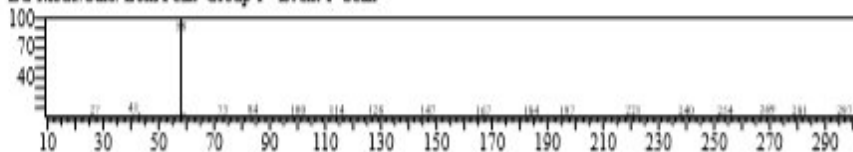


<< Target >>

Line# 22 R.Time: 77.550 (Scan# 14911) MassPeaks: 195

RawMode: Averaged 77.545-77.555 (14910-14912) BasePeak: 58.05 (91447)

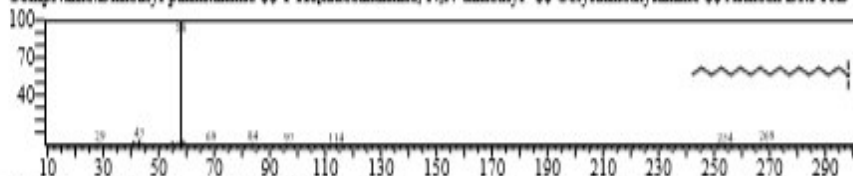
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#1 Entry: 26154 Library: NIST14a.lib

SI-98 Formula: C18H39N CAS: 112-69-6 MolWeight: 269 RetIndex: 1860

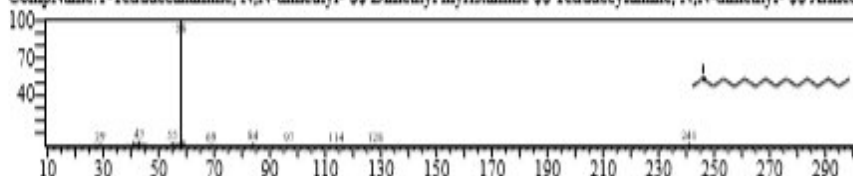
CompName: Dimethyl palmitamine \$\$ 1-Hexadecanamine, N,N-dimethyl- \$\$ Cetyltrimethylammonium chloride Armeen DM 16D



Hit#2 Entry: 23725 Library: NIST14a.lib

SI-96 Formula: C16H35N CAS: 112-75-4 MolWeight: 241 RetIndex: 1661

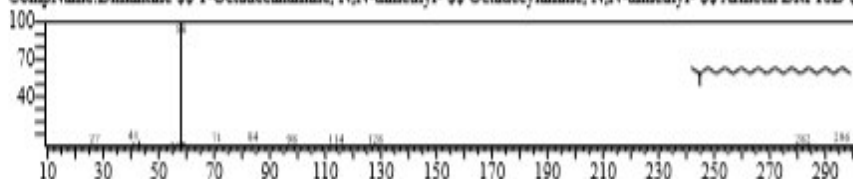
CompName: 1-Tetradecanamine, N,N-dimethyl- \$\$ Dimethyl myristamine \$\$ Tetradecylamine, N,N-dimethyl- \$\$ Armeen



Hit#3 Entry: 28184 Library: NIST14a.lib

SI-96 Formula: C20H43N CAS: 124-28-7 MolWeight: 297 RetIndex: 2058

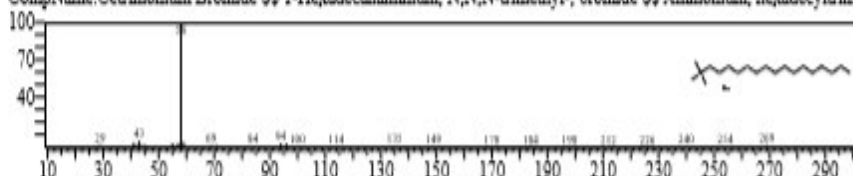
CompName: Dimantine \$\$ 1-Octadecanamine, N,N-dimethyl- \$\$ Octadecylamine, N,N-dimethyl- \$\$ Armeen DM 18D



Hit#4 Entry: 31448 Library: NIST14a.lib

SI-95 Formula: C19H42BrN CAS: 57-09-0 MolWeight: 363 RetIndex: 0

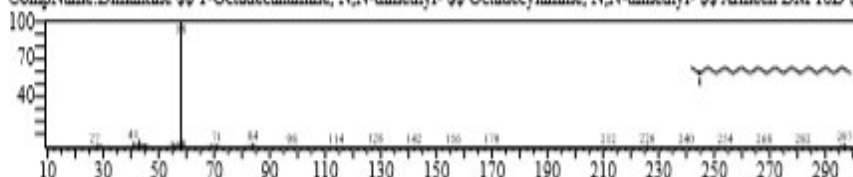
CompName: Cetrimonium Bromide \$\$ 1-Hexadecanaminium, N,N,N-trimethyl-, bromide \$\$ Ammonium, hexadecyltrimethyl-



Hit#5 Entry: 28183 Library: NIST14a.lib

SI-95 Formula: C20H43N CAS: 124-28-7 MolWeight: 297 RetIndex: 2058

CompName: Dimantine \$\$ 1-Octadecanamine, N,N-dimethyl- \$\$ Octadecylamine, N,N-dimethyl- \$\$ Armeen DM 18D

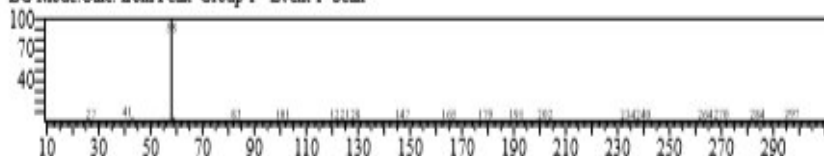


<< Target >>

Line# 23 R.Time: 82.135(Scan#: 15828) MassPeaks: 152

RawMode: Averaged 82.130-82.140(15827-15829) BasePeak: 58.05(27095)

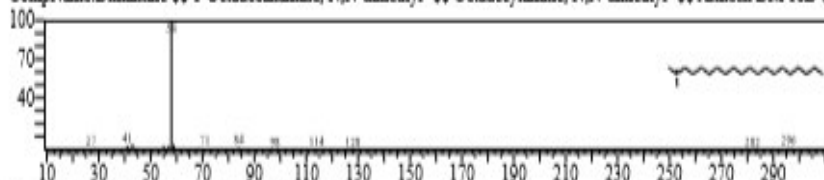
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 28184 Library: NIST14s.lib

SI: 97 Formula: C₂₀H₄₃N CAS: 124-28-7 MolWeight: 297 RetIndex: 2058

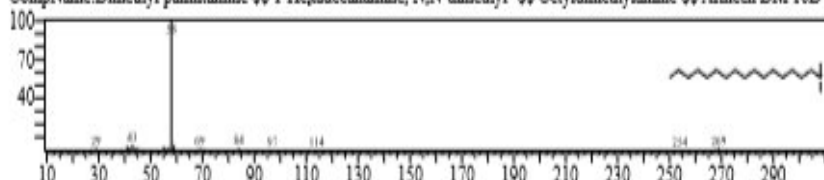
CompName: Dimantane \$\$ 1-Octadecanamine, N,N-dimethyl- \$\$ Octadecylamine, N,N-dimethyl- \$\$ Armeen DM 18D \$



Hit# 2 Entry: 26154 Library: NIST14s.lib

SI: 96 Formula: C₁₈H₃₉N CAS: 112-69-6 MolWeight: 269 RetIndex: 1860

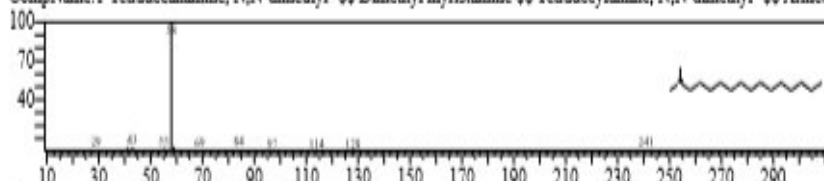
CompName: Dimethyl palmitamine \$\$ 1-Hexadecanamine, N,N-dimethyl- \$\$ Cetyltrimethylamine \$\$ Armeen DM 16D \$



Hit# 3 Entry: 23725 Library: NIST14s.lib

SI: 95 Formula: C₁₆H₃₅N CAS: 112-75-4 MolWeight: 241 RetIndex: 1661

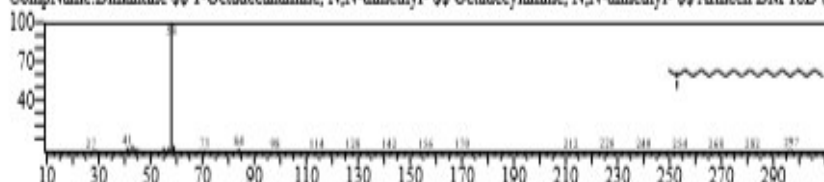
CompName: 1-Tetradecanamine, N,N-dimethyl- \$\$ Dimethyl myristamine \$\$ Tetradecylamine, N,N-dimethyl- \$\$ Armeen DM 14D \$



Hit# 4 Entry: 28183 Library: NIST14s.lib

SI: 95 Formula: C₂₀H₄₃N CAS: 124-28-7 MolWeight: 297 RetIndex: 2058

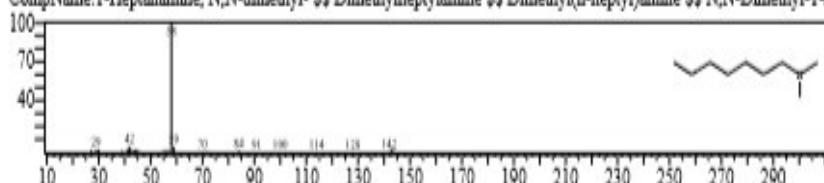
CompName: Dimantane \$\$ 1-Octadecanamine, N,N-dimethyl- \$\$ Octadecylamine, N,N-dimethyl- \$\$ Armeen DM 18D \$



Hit# 5 Entry: 8002 Library: NIST14s.lib

SI: 93 Formula: C₉H₂₁N CAS: 5277-11-2 MolWeight: 143 RetIndex: 965

CompName: 1-Heptanamine, N,N-dimethyl- \$\$ Dimethylheptylamine \$\$ Dimethyl(n-heptyl)amine \$\$ N,N-Dimethyl-1-heptanamine



ANEXO 5

Tabla 18. Combinación de los componentes de los aceites esenciales y sus interacciones antimicrobianas contra varios microorganismos.

Pair combinations	Organism	Methods	Interaction	References
Thymol/carvacrol	<i>Staphylococcus Aureus</i> ,	Half dilution	Additive	Lambert <i>et al.</i> [23]
	<i>Pseudomonas. Aeruginosa</i>			
	<i>Escherichia Coli</i>	Checkerboard	Synergism	Pei <i>et al.</i> [54]
	<i>S. aureus</i> , <i>Bacillus. cereus</i> ,	Checkerboard	Antagonism	Gallucci <i>et al.</i> [55]
	<i>E coli</i>			
	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Mixture	Additive	Lambert <i>et al.</i> [23]
	<i>E. coli</i>	Checkerboard	Additive	Rivas <i>et al.</i> [56]
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Mixture	Synergism	Zhou <i>et al.</i> [57]
Thymol/eugenol	<i>E. coli</i>	Checkerboard	Synergism	Pei <i>et al.</i> [54]
Carvacrol/eugenol	<i>E. coli</i>	Checkerboard	Synergism	Pei <i>et al.</i> [54]
	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> ,	Checkerboard	Antagonism	Gallucci <i>et al.</i> [55]
	<i>E coli</i>			
Carvacrol/myrcene	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>E coli</i>	Checkerboard	Antagonism	Gallucci <i>et al.</i> [55]
Carvacrol/Cymene	<i>B. cereus</i>	Mixture	Synergism	Ultee <i>et al.</i> [58]
Carvacrol/linalool	<i>Listeria monocytogenes</i> ,	Checkerboard	Synergism	Bassole <i>et al.</i> [30]
Eugenol/linalool	<i>Enterobacter aerogenes</i> ,			
Eugenol/menthol	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>			
Menthol/Geraniol	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i>		Synergism	Gallucci <i>et al.</i> [55]
Menthol/Thymol				
Cinnamaldehyde/	<i>E. coli</i>	Checkerboard	Additive	Pei <i>et al.</i> [54]
Carvacrol	<i>S. typhimurium</i>	Mixture	Synergism	Zhou <i>et al.</i> [57]
Cinnamaldehyde/	<i>E. coli</i>	Checkerboard	Synergism	Pei <i>et al.</i> [54]
Thymol	<i>S. typhimurium</i>	Mixture	Synergism	Zhou <i>et al.</i> [57]
Cinnamaldehyde/	<i>Staphylococcus sp.</i> ,	Mixture	Additive	Moleyar et Narasimham [59]
Eugenol	<i>Micrococcus sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , and <i>Enterobacter sp.</i>			
1,8-Cineole/	methicillin-resistant	Checkerboard	Additive	Mulyaningsih <i>et al.</i> [60]
Aromadendrene	<i>S. aureus</i> (MRSA) and vancomycin-resistant enterococci (VRE)			
	<i>Enterococcus faecalis</i>			
Limonene/	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Mixture	Synergism	van Vuuren and Viljoen [61]
1,8-cineole				
α-pinene/Limonene	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Checkerboard	synergism, additive	Tserennadmid <i>et al.</i> [62]

Pair combinations	Organism	Methods	Interaction	References
α -pinene/Linalool				
Linalool/ Terpinen-4-ol				
<i>O. vulgare</i> / <i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>L. monocytogenes</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Aeromonas hydrophilla</i> , <i>P. fluorescens</i>	Mixture	synergism	de Azeredo <i>et al.</i> [63]
<i>O. vulgare</i> / <i>T. vulgaris</i>	<i>P. fluorescens</i>	Mixture	Additive	
<i>Lippia multiflora</i> / <i>Mentha piperita</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>L. monocytogenes</i> ,	Checkerboard	Synergism, additive	Bassole <i>et al.</i> [30]
<i>L. multiflora</i> / <i>O. basilicum</i>	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>S. Aureus</i>			
<i>M. piperita</i> / <i>O. basilicum</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. enterica</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. aureus</i>			
<i>S. aromaticum</i> / <i>R. officinalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>P. aeruginosa</i> <i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus niger</i>	Mixture	Additive Synergism Antagonism	Fu <i>et al.</i> [42]
<i>C. zeylanicum</i> / <i>S. aromaticum</i>	<i>E. coli</i>	Mixture	Antagonism	Goni <i>et al.</i> [64]
	<i>Y. enterocolitica</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>B. Cereus</i>	Mixture	Synergism	
<i>O. vulgare</i> / <i>O. basilicum</i>	<i>B. Cereus</i> , <i>E. Coli</i> , <i>P. Aeruginosa</i>	Checkerboard	Additive	Gutierrez <i>et al.</i> [20]
<i>O. vulgare</i> / <i>Melissa officinalis</i>	<i>B. cereus</i>			
<i>O. vulgare</i> / <i>O. majorana</i>	<i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i>			
<i>O. vulgare</i> / <i>R. officinalis</i>	<i>B. cereus</i>			
<i>O. vulgare</i> / <i>T. vulgaris</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Listeria innocua</i>	Checkerboard	Additive	Gutierrez <i>et al.</i> [65]

Pair combinations	Organism	Methods	Interaction	References
<i>O. vulgare</i> / <i>Salvia triloba</i>	<i>B. cereus</i>			
<i>O. vulgare</i> / <i>T. vulgaris</i>	<i>B. cereus</i> , <i>P. aeruginosa</i>			
<i>O. vulgare</i> / <i>T. vulgaris</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Listeria Innocua</i>	Checkerboard	Additive	Gutierrez <i>et al.</i> [65]
<i>T. vulgaris</i> / <i>O. majorana</i>	<i>E. cloacae</i>			
<i>T. vulgaris</i> / <i>M. officinalis</i>	<i>L. innocua</i>			
<i>Cymbopogon citratus</i> / <i>C. giganteus</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. aureus</i>	Checkerboard	Synergism, additive	Bassole <i>et al.</i> [66]